

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI

**DÜŞÜK MALİYETLİ BİR FRUKTOZAMİN  
TESTİNİN OTOMASYONU; LABORATUVAR  
PERFORMANSI VE KLİNİK YARARLILIĞININ  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

737989

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

UZMANLIK TEZİ

137989

DR.TUNCAY KÜME

Danışman Öğretim Üyesi: Prof.Dr.Banu Önvural

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>i</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>iii</b>
<b>GRAFİK LİSTESİ</b>	<b>iii</b>
<b>KISALTMALAR</b>	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>v</b>
<b>ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>2</b>
<b>BİRİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>3</b>
<b>İKİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	<b>5</b>
<b>2.1.DİABETES MELLİTUS</b>	<b>5</b>
2.1.1.Tanımı	5
2.1.2.Epidemiyolojisi	5
2.1.3.Sınıflandırılması	6
2.1.4.Tanı kriterleri	6
2.1.5.Fizyopatolojisi	7
2.1.5.1.Tip 1 Diabetes Mellitus'un fizyopatolojisi	8
2.1.5.2.Tip 2 Diabetes Mellitus'un fizyopatolojisi	8
2.1.6.Komplikasyonları	9
2.1.6.1.Komplikasyonlarının sınıflandırılması	9
2.1.6.2.Kronik dejeneratif komplikasyonları fizyopatolojisi	10
<b>2.2.NONENZİMATİK GLİKASYON</b>	<b>14</b>
2.2.1.Terminolojisi ve tanımı	14
2.2.2.Kimyası	15
2.2.2.1.Enzimatik glikasyon	15
2.2.2.2.Nonenzimatik glikasyon	16
2.2.3.Tarihçesi	17
2.2.4.Mekanizması	17
2.2.5.Çeşitleri	18

2.2.5.1.Yarı ömrü kısa proteinlerin nonenzimatik glikasyonu	19
2.2.5.1.Yarı ömrü uzun proteinlerin nonenzimatik glikasyonu	19
2.2.6.Etkileyen faktörler	20
2.2.7.Etkileri	21
2.2.8.Diabetes Mellitus'ta nonenzimatik glikasyon	23
2.2.9.Diabetes Mellitus'ta glisemik kontrolün önemi ve izlemi	24
2.2.10.Diabetes Mellitus'ta glisemik kontrolün izleminde glike proteinler	24
<b>2.3.FRUKTOZAMİN</b>	<b>25</b>
2.3.1.Serumdaki proteinler ve albumin	25
2.3.2.Terminolojisi ve tanımı	28
2.3.3.Ölçümü	28
2.3.4.Klinik yararlılığı	30
2.3.4.1.Tanı ve Tarama Testi Olarak	30
2.3.4.2.İzlem Testi Olarak	31
2.3.4.3.Kullanımının Avantajlı olduğu durumlar	32
2.3.4.4. Kullanımının Dezavantajlı olduğu durumlar	34
<b>2.4.DİABETES MELLİTUS İZLEMİNDE YENİ LABORATUVAR TESTLERİ</b>	<b>34</b>
2.4.1.Glikoalbumin	34
2.4.2.1,5-anhidroglusitol	35

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

<b>3.YÖNTEM VE GEREÇLER</b>	<b>36</b>
<b>3.1.ARAÇ VE GEREÇLER</b>	<b>36</b>
3.1.1.Cihazlar	36
3.1.2.Kimyasal maddeler	37
3.1.3.Kitler	37
3.1.4.Gereçler	38
<b>3.2.OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI</b>	<b>38</b>
3.2.1.Olguların seçimi	38
3.2.2.Örneklerin toplanması ve saklanması	38

<b>3.3.FİZİKSEL BULGULAR</b>	<b>39</b>
3.3.1.Arteriyel tansiyon ölçümü	39
3.3.2.Vücut ağırlığı ve boy ölçümü	39
3.3.3.Bel ve kalça çevresi ölçümü	39
3.3.4.Ciltaltı yağ dokusu kalınlığı ölçümü	40
3.3.5.İmpedans ölçümü	40
<b>3.4.BİYOKİMYASAL ANALİZLER</b>	<b>41</b>
3.4.1.Fruktozamin analizi	41
3.4.1.1.Yöntem prensibi	41
3.4.1.2.Reaktifler	41
3.4.1.3.Standartlar ve kontrol materyelleri	42
3.4.1.4.Manuel ve otomatize yöntem prosedürleri	43
3.4.1.5.Optimizasyon çalışmaları	44
3.4.1.6.Analitik performans çalışmaları	44
3.4.2.Diğer analizler	45
<b>3.5.İSTATİSTİKSEL ANALİZLER</b>	<b>45</b>
3.5.1.Verilerin kaydedilmesi	45
3.5.2.Veri alanları tanımı ve verilerin kantitatif hale dönüştürülmesi	45
3.5.3.Verilerin analizi, tablo ve grafiklerle gösterilmesi	45
<b>3.6.KISITLILIKLAR</b>	<b>46</b>
<b>DÖRDÜNCÜ BÖLÜM</b>	
<b>4.BULGULAR</b>	<b>48</b>
<b>BEŞİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>5.TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>69</b>
<b>EKLER</b>	<b>74</b>

## TABLO LİSTESİ

- Tablo 1** : Diabetes Mellitus'un sınıflandırması
- Tablo 2** : Diabetes Mellitus'un tanı kriterleri
- Tablo 3** : Diabetes Mellitus'un komplikasyonları
- Tablo 4** : Komplikasyonların oluşmasında sorumlu mekanizmalar
- Tablo 5** : Glikasyon çeşitleri
- Tablo 6** : Organizmada nonenzimatik glikasyona uğradığı saptanan bazı proteinler
- Tablo 7** : Nonenzimatik glikasyonu etkileyen faktörler
- Tablo 8** : İnvivo ve invitro şartlarda nonenzimatik glikasyon reaksiyonunu etkileyen faktörler
- Tablo 9** : Nonenzimatik glikasyonun etkilediği fizyolojik süreçlerden bazıları
- Tablo 10** : Serum proteinlerinin fonksiyonlarından bazıları
- Tablo 11** : Plazma albumin düzeyini etkileyen faktörler
- Tablo 12** : HbA<sub>1c</sub> ölçümlerinin etkilendiği bazı durumlar
- Tablo 13** : Kısa periyodlarla izlem gerektiren durumlardan bazıları
- Tablo 14** : Fruktozamin ölçümlerinin etkilendiği bazı durumlar
- Tablo 15** : Tez çalışmasında kullanılan cihazların listesi
- Tablo 16** : Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddelerin listesi
- Tablo 17** : Tez çalışmasında kullanılan kitlerin listesi
- Tablo 18** : Tez çalışmasında kullanılan gereçlerin listesi
- Tablo 19** : Olgularda yapılan ölçümler
- Tablo 20** : Fruktozamin ölçümünde ürik asid interferans etkisinin çıkarılması
- Tablo 21** : Fruktozamin ölçüm yönteminde kullanılan reaktifler
- Tablo 22** : Serum havuzlarının bileşimi
- Tablo 23** : Fruktozamin ölçümü manuel yöntem prosedürü
- Tablo 24** : Fruktozamin ölçümü otomatize yöntem prosedürü
- Tablo 25** : Tekrarlanabilirlik deney sonuçları
- Tablo 26** : Doğruluk deney sonuçları
- Tablo 27** : Optimal Triton X-100 konsantrasyonunu saptamak için yapılan deney sonuçları
- Tablo 28** : Kontrol ve T2DM'li grupların yaş ortalamalarının karşılaştırılması
- Tablo 29** : Kontrol ve T2DM 'li grupların cinsiyet dağılımları
- Tablo 30** : Kontrol ve T2DM 'li grupların bazı parametrelerinin karşılaştırılması

## TABLO LİSTESİ (devam)

- Tablo 31** : Fruktozamin ve bazı parametrelerin cinsiyete göre karşılaştırılması
- Tablo 32** : Yaşa göre serum fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) ortalamalarının karşılaştırılması
- Tablo 33** : Yaşa göre serum total protein ve albumin ortalamalarının karşılaştırılması
- Tablo 34** : Sigara içme alışkanlığına göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 35** : Alkol içme alışkanlığına göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 36** : Ev aktivitesine göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 37** : İş aktivitesine göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 38** : Egzersiz aktivitesine göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 39** : Diyetle göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 40** : Hastalık başlama yaşına göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 41** : DM süresine göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 42** : Kullandığı antidiabetik ilaçlara göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 43** : Kullandığı diğer ilaçlara göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 44** : BMI göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 45** : WHR göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 46** : İmpedans ölçümüne göre fruktozamin ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 47** : T2DM'lilerde komplikasyon varlığına göre fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 48** : Komplikasyon türlerine göre sınıflandırıldığında fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 49** : T2DM'lerde fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ile KB karşılaştırılması
- Tablo 50** : T2DM'lerde fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ile hiperlipidemi karşılaştırılması

## ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1** : Polioll yolu  
**Şekil 2** : Diabetes Mellitus'ta fizyopatolojik mekanizmalar  
**Şekil 3** : Glikoproteinlerde oligosakkarit bağları  
**Şekil 4** : Nonenzimatik glikasyon reaksiyonu  
**Şekil 5** : Kısa ve uzun ömürlü proteinlerde nonenzimatik glikasyon  
**Şekil 6** : Plazma proteinlerinin dağılımı (elektroforetik diyagram)  
**Şekil 7** : Serum albumininin üç boyutlu yapısı  
**Şekil 8** : Fruktozamin ölçümünde NBT reaksiyonu

## GRAFİK LİSTESİ

- Grafik 1** : Fruktozamin analizi kalibrasyon eğrisi  
**Grafik 2** : Kontrol ve T2DM'li grupların yaş dağılımları  
**Grafik 3** : Kontrol ve T2DM 'li grupların cinsiyet dağılımları  
**Grafik 4** : Kontrol ve T2DM 'li grupların fruktozamin düzeyleri  
**Grafik 5** : Kontrol ve T2DM'li grupların fruktozamin dağılımları  
**Grafik 6** : Serum fruktozamin düzeylerinin kan şekeri ile karşılaştırılması  
**Grafik 7** : Serum fruktozamin düzeylerinin HbA<sub>1c</sub> ile karşılaştırılması

## KISALTMALAR

<b>1,5-AG</b>	: 1,5-anhidroglusitol
<b>5-HMF</b>	: 5-hidroksimetil-2-furfural aldehid
<b>AACE</b>	: “American Association of Clinical Endocrinologists”
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ADA</b>	: “American Diabetes Association”
<b>AGEs</b>	: “Advanced Glycated Endproducts” = İleri Glikasyon Ürünleri
<b>BMI</b>	: “Body Mass Index” = Vücut Kitle İndeksi
<b>cPLA<sub>2</sub></b>	: “Cellular phospholipase A <sub>2</sub> ” = Hücresel fosfolipaz A <sub>2</sub>
<b>DAG</b>	: Diaçilgliserol
<b>DCCT</b>	: “Diabetes Control ve Complication Trial”
<b>DHA</b>	: Dihidroksiaseton
<b>DM</b>	: “Diabetes Mellitus”
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>GDM</b>	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
<b>GHb = HbA<sub>1c</sub></b>	: Glike hemoglobin = Hemoglobin A <sub>1c</sub>
<b>GSP = SGP</b>	: Glike serum proteinleri = Serum glike proteinleri
<b>IUPAC-IUB</b>	: “International Union of Pure and Applied Chemistry – International Union of Biochemistry”
<b>Na-K ATPaz</b>	: Sodyum potasyum adenozintrifosfataz
<b>NAD</b>	: Nikotinamid adenindinükleotid
<b>NADP</b>	: Nikotinamid adenindinükleotid fosfat
<b>NBT</b>	: Nitrobluetetrozolum
<b>NDDG</b>	: “National Diabetes Data Group” = Ulusal Diabet Veri Grubu
<b>PG</b>	: Prostaglandin
<b>PKC</b>	: Proteinazkinaz C
<b>OGTT</b>	: Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>T1DM / T2DM</b>	: Tip 1 Diabetes Mellitus / Tip 2 Diabetes Mellitus
<b>UKDPS</b>	: “United Kingdom Diabetes Prospective Study”
<b>WHO</b>	: “World Health Organization” = Dünya Sağlık Örgütü
<b>WHR</b>	: “Waist to hip ratio” = Bel Kalça Oranı



## TEŞEKKÜR

Biyokimya ve Klinik Biyokimya uzmanlık eğitimim süresince, manevi desteklerini ve güler yüzlerini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve tüm çalışanlarına;

Başlangıçta tez konumun seçiminde ve çalışmalarım süresince bilimsel açıdan yardımcı olan, daha sonra üniversiteden ayrılmak zorunda kalan danışmanım Sayın Prof. Dr. Sinan Taş'a; tez çalışmam sırasında benimle yakından ilgilenen, bilimsel ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim ve tezimi birlikte bitirdiğim danışmanım Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Banu Önvural'a;

Tez projemin düzenlenmesi ve olgularımın toplanmasında yardımcı olan Endokrinoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sena Yeşil'e, Endokrinoloji Bilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Doç. Dr. Abdurrahman Çömlekçi'ye ve Sayın Yard. Doç. Dr. Fırat Bayraktar'a; olguların toplanması sırasında gösterdikleri ilgi ve desteklerinden dolayı Endokrinoloji Bilim Dalı uzmanları Dr. Gonca Öruk'e ve Dr. Ali Saklamaz'a, endokrinoloji rotasyonundaki dahiliye asistanlarına ve sekreterlerine;

Tezim için gerekli malzeme ve ortamın temininde bana her türlü kolaylığı sağlayan Merkez Laboratuvarı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hakan Abacıoğlu'na ve kimyager Hüseyin Turgay'a;

Tez çalışmamda kan alınması, örneklerin toplanması ve saklanması sırasında yardımcı olan arkadaşım Sayın Araş. Gör. Dr. Gültekin Taş'a, rutin analizlerinin yapılması sırasında yardımcı olan arkadaşlarım Sayın Yard. Doç. Dr. Sezer Çalışkan'a, Sayın Uzm. Dr. Ali Rıza Şişman'a, Sayın Yük.Lis. Servet Kızıldağ'a, Sayın Selma Gürsoy'a, Sayın Şebnem Tüzün'e, Sayın Yük.Lis. Kerim Gündüz'e, Sayın Koray Ogan'a, Sayın Adile Özgönül'e;

Tez çalışmam sırasında kontrol grubumun toplanmasında yardımcı olan Narlıdere Dinlenme ve Bakımevi'nin sağlık personeli Dr. Funda Doğruak'a, Dr. Umut Malay'a ve hemşirelerine;

Tez çalışmam sırasında peşinde koştuğum Hitachi 912 otoanalizörünü kullanmamda kolaylık sağlayan, Karşıyaka Biyokimya Laboratuvarı sorumlusu Uzm. Dr. Başak Bingöl ve laboratuvar çalışanlarına, Farmakoloji Laboratuvarı sorumlusu Yrd. Doç. Dr. Mukaddes Gümüştekin'e ve asistan arkadaşlara;

İstatistik analizlerin yapılmasında bana yardımcı olan arkadaşım Halk Sağlığı Uzmanı Sayın Dr. Mestan Emek'e; tezimin son düzeltmelerinde bana yardımcı olan ve uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim Sayın Prof. Dr. Canan Çoker'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca arkadaşlık, dostluklarını esirgemeyen ve kontrol grubumunun oluşmasına katkıda bulunan tüm asistan arkadaşlarıma ve değerli merkez laboratuvarı çalışanlarına;

Her zaman yanımda olan ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve tez yazımı sırasında sevgi, sabır, anlayışla her koşulda bana destek olan eşim Sayın Dr. Gonca Küme'ye teşekkür ederim.

## ÖZET

### DÜŞÜK MALİYETLİ BİR FRUKTOZAMİN TESTİNİN OTOMASYONU; LABORATUVAR PERFORMANSI VE KLİNİK YARARLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Diabetes Mellitus (DM), uzun dönemde vücudun çeşitli organ ve sistemlerinde hasarlar, fonksiyon kusurları ve yetersizliklerle seyrederek. DM'nin erken teşhisi ve sıkı hiperglisemi tedavisi, DM'li hastaların morbidite ve mortalitesini düşürür. DM tanısı ve tedavi izlemi açısından klinik kimya testleri önemli bir role sahiptir. Fruktozamin testi, serum proteinlerinin nonenzimatik glikasyon derecesini yansıtan, dolayısıyla HbA<sub>1c</sub> gibi ama daha kısa aralıklarla glisemik kontrolün değerlendirilmesinde yararlanılabilen bir klinik kimya testidir.

Bu çalışmada düşük maliyetli bir fruktozamin testinin optimizasyon ve otomasyonunu gerçekleştirdikten sonra, DM'nin uzun dönemli komplikasyonlarıyla ilişkisi araştırıldı. Bu sebeple ortalama yaşı 60±20 olan kontrol (n=146) ve ortalama yaşı 61±11 olan T2DM'li olgularda (n=353) serum fruktozamin ve ilgili bazı parametreler analiz edildi. "Nitrobluetetrozolum Yöntemi" kullanılarak otomatize edilen fruktozamin testinin gün içi tekrarlanabilirliği %0,7 (n=10), günler arası tekrarlanabilirliği %2,5 (n=10) olarak saptandı.

Ortalama fruktozamin konsantrasyonu kontrol grubunda 270±47µmol/L ve hasta grubunda 342±74µmol/L olup, anlamlı olarak farklıdır (p<0,05). Yapılan kesitsel araştırma ile T2DM grubunda uzun dönemli diabetik komplikasyonların varlığına göre fruktozamin konsantrasyonu arasında bir ilişki saptanmadı (p>0,05). Bununla beraber; HbA<sub>1c</sub> ile korele olması (r=0,817, p<0,05), otomasyona uygunluğu, maliyetinin düşüklüğü, uygulanabilirliğinin kolaylığı sebebiyle fruktozamin testi DM hastalarının glisemi takibini yapmada yararlı bir laboratuvar parametresidir.

**Anahtar kelimeler:** Tip 2 diabetes mellitus, nonenzimatik glikasyon, glisemik kontrol, glisemik serum proteini, fruktozamin.

## SUMMARY

### **AUTOMATION OF A LOW COST FRUCTOSAMINE ASSAY; EVALUATION OF THE LABORATORY PERFORMANCE AND CLINICAL USEFULNESS.**

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder which causes destruction and failure of organs and systems in long term. Early diagnosis and strict hyperglycemia therapy of DM decreases mortality and morbidity of diabetic patients. Clinical chemistry tests are important for diagnosing and monitoring therapy in DM. Fructosamine which reflects nonenzymatic glycation of serum proteins is a useful test to evaluate short-term glycaemic control.

The aim of this study was to optimise and automate a low cost fructosamine assay and then to investigate the relationship between long-term complications. Serum fructosamine was measured by nitrobluetetrazolium method in non-diabetic controls (n=146) with a mean age of 60±20 and diabetic subjects (n=353) with a mean age of 61±11. The within-day imprecision and between day imprecision of the automated method were %0,7 (n=10) and %2,5 (n=10), respectively.

Mean fructosamine concentration were significantly increased in DM (342± 74 µmol/L) compared with control group (270±47 µmol/L) (p<0,05). This cross-sectional study suggested that fructosamine concentration was not related to long-term complications of DM (p>0,05). However, since it is highly correlated with HbA1c (r=0,817, p<0,05), fructosamine test may be a useful laboratory parameter for monitoring glycemia also being an inexpensive, appropriate for automation and relatively simple test.

**Key words:** Type 2 diabetes mellitus, nonenzymatic glycation, glycaemic control, glycated serum proteins, fructosamine.

## BİRİNCİ BÖLÜM

### 1.GİRİŞ VE AMAC

Bilinen en eski sistemik metabolik hastalıklardan biri olan “Diabetes Mellitus” (DM), günümüzde büyük bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) popülasyonun % 6-7’sini etkileyen en sık görülen endokrin hastalıktır. Ayrıca günümüzde ölüm sebepleri arasında 4. sırada yer alan bir hastalıktır (2,3).

DM kronik ve devamlı bir hastalıktır. Uzun dönemli seyrinde vücutta çeşitli doku ve organlarda komplikasyonlara sebep olarak, yaşam kalitesinin düşmesine ve ölüme yol açar (2,3). Ayrıca DM toplumda sık görülmesi, kronik bir hastalık olması ve yol açtığı komplikasyonlar sebebiyle hastaların bakım ve tedavisinde büyük harcamalar gerektirmektedir (4).

DM, patogenezi henüz tam aydınlatılmamış bir hastalık olup, hala bir araştırma ve tartışma konusudur. DM patogenezinde hem çevresel, hem de genetik faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (3,6,8).

DM, uzun dönemde vücudun çeşitli doku, organ ve sistemlerinde hasarlar, fonksiyon kusurları ve yetersizliklerle seyredir. DM’nin kronik komplikasyonlarının gelişiminde, çeşitli fizyopatolojik mekanizmalar rol oynar. Bu mekanizmalardan biri, bozuk glisemi kontrolüne bağlı olarak proteinlerin nonenzimatik glikasyonunun artmasıdır (3, 6, 15, 16, 17).

DM komplikasyonlarının gelişmesinden, bozuk glisemi kontrolüne bağlı ortaya çıkan hipergliseminin sorumlu olduğu gösterilmiştir. DM’nin erken teşhisi ve uygun hiperglisemi tedavisi DM’li hastaların morbidite ve mortalitesini düşürerek yaşam kalitesini artırır (12,13).

Klinik kimya testleri, DM’li hastaların tanı ve tedavi izlemlerinde önemli bir role sahiptir. Glisemi kontrolünün göstergesi olarak kullanılan glike hemoglobin (hemoglobin A<sub>1c</sub>) ve glike serum proteinlerinin (fruktozamin) ölçümü özellikle tedavi izlemlerinde çok yararlı araçlardır.

Fruktozamin testi, serum proteinlerinin (ağırlıklı olarak albuminin) nonenzimatik glikasyon derecesini yansıtan, dolayısıyla HbA<sub>1c</sub> gibi glisemik kontrolün değerlendirilmesinde yararlanılabilen bir klinik kimya testidir. Fruktozamin ölçümü, HbA<sub>1c</sub> ölçümü ile eşit düşünülmemelidir. Çünkü daha kısa aralıklarla glisemik kontrolü gösterir. Bu sebeple fruktozamin ölçümü, HbA<sub>1c</sub> ile yılda dört kez elde edilen bilgiyi yılda on iki kez sağlar.

Fruktozamin ölçümünün klinik kullanımına yönelik daha sağlıklı değerlendirmeler yapmak için yeni araştırmalar yapmak gereklidir. Henüz fruktozamin ölçümlerinin, DM'nin kronik komplikasyonlarının gelişmesiyle ilişkisi gösterilmemiştir (47). Bu sebeple "American Diabetes Association" (ADA), HbA<sub>1c</sub> ölçümlerinin glisemik kontrolün izlenmesinde kullanılmasını tavsiye etmesine rağmen fruktozamin henüz tavsiye etmemiştir (47, 48).

Fruktozamin analizinde günümüzde en yaygın olarak kullanılan yöntem NBT redüksiyonuna dayanır. Düşük maliyetli, hassas, basit ve kolaylıkla otomatize edilebilir olması gibi avantajları vardır (43, 44).

Bu çalışmada "Nitrobluetetrozolum Yöntemi" ile düşük maliyetli bir fruktozamin testinin otomasyonunu gerçekleştirmeyi ve testin laboratuvar performansını değerlendirdikten sonra uzun dönemli komplikasyonlarla ilişkisini ortaya koyarak klinik yararlılığını değerlendirmek amaçlanmaktadır.



## İKİNCİ BÖLÜM

### 2.GENEL BİLGİLER

#### 2.1.DİABETES MELLİTUS

##### 2.1.1.Tanımı

DM terimi, insülin hormonu sekresyonunun ve/veya etkisinin mutlak veya göreceli azlığındaki defekten kaynaklanan karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan multipl etyoloji ile karakterize kronik hiperglisemik bir grup metabolik hastalığı tanımlar (1).

DM; susuzluk, polidipsi, poliüri, kilo kaybı gibi karakteristik semptomlara; ciddi formlarında stupor, koma, hatta ölümlere yol açan ketoasidoz veya nonketotik koma gibi akut komplikasyonlara; görme kaybı, böbrek yetmezliği, ayakta ülserler ve amputasyonlara yol açan nöropati, retinopati ve nefropati gibi kronik komplikasyonlara sebep olabilir. Ayrıca DM'li kişilerde kardiovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklara yakalanma riskinde artış da mevcuttur (1, 2, 3).

##### 2.1.2.Epidemiyolojisi

DM toplumda sık karşılaşılan; özellikle gelişmiş ülkelerde toplumun %6-7'sini etkileyen ve ölüm sebepleri arasında 4. sırada yer alan bir hastalıktır. Tip 2 DM (T2DM) bu rakamlarının %85-90'ından sorumludur (2,3).

DM yetişkin popülasyonu etkileyen bir hastalıktır. ABD'de 40-74 yaşları arasındaki sıklığı %12'dir. Fakat DM; sıklığı özellikle genç yaşlarda da artmaya başlayan bir sağlık sorunudur. ABD'de 20-74 yaş arası populasyonda DM prevalansı 1990'da %4,9'dan 1998'de %6,5'a çıkmıştır (2,3).

DM'nin gelecekte de sıklığı artmaya devam edecektir. Tüm dünyada 1995'de 135 milyon, 1998'de 140 milyon, 2000'de 154 milyon, 2010 yılında 220 milyon, 2025 yılında 300 milyon kişinin DM hastası olacağı ve bunun yaklaşık 213 milyonunun T2DM'li olacağı hesaplanmıştır (2).

Kronik bir hastalık olan DM, önemli bir sağlık harcamasına da sebep olmaktadır. ABD'de 1997'de DM ile ilgili sağlık harcamalarının yaklaşık 100 milyar dolar olduğu açıklanmıştır. Bu rakam hasta sayısı çoğaldıkça ve hastalara yeterli tedavi yapılmadıkça giderek artmaktadır (4).

### 2.1.3.Sınıflandırılması

DM, kan şekeri yüksekliği ile karakterize heterojen bir grup bozukluğu içerir. DM'nin dört major tipi tanımlanmıştır (Tablo 1) (1,5):

Tablo 1: Diabetes Mellitus'un Sınıflandırması

1. İnsüline bağımlı DM [insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)/ Type I DM (T1DM)]
2. İnsülden bağımsız DM [non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)/ Type II DM (T2DM)]
3. Gebelik DM [gestational diabetes mellitus (GDM)]
4. Diğer DM tipleri [other specific types]

### 2.1.4.Tanı Kriterleri

DM tanısı koyarken, yerleşmiş hastalığın bireysel yükü ağır olacağı ve ömür boyu süreceği için, emin olunmalıdır. Ağır semptomları ve belirgin hiperglisemisi olan bir olgu ile asemptomatik, kan glukoz konsantrasyonu üst limiti hafif geçmiş olgu arasında tanıda izlenecek yollar birbirinden farklıdır. Belirgin hiperglisemi; enfeksiyon, travma, miyokard infarktüsü, stres gibi akut gelişen bir olaya bağlı geçici olarak ortaya çıkmış olabilir. Kan glukozu yüksek olan kişilerde test tekrarlanarak veya oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılarak tanı doğrulanmalıdır. Buna rağmen kesin tanı konulamayanlarda, belirli aralıklarla testlerin tekrarı veya yeni testlerin eklenmesi düşünülmelidir.

1970'lerin sonunda "Dünya Sağlık Örgütü" (WHO) ve "Ulusal Diabetes Veri Grubu" (NDDG), ilk kez DM tanısı ve sınıflandırma kriterlerini yayınlamış ve 1985'de WHO tarafından yenilenen DM tanısı kriterleri, 1997'de ADA tarafından yeniden gözden geçirilip düzenlenmiştir (Tablo: 2)(1,5).

Tablo 2: Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri

1. İki ardışık ölçümde açlık plazma glukoz düzeyinin  $\geq 126$  mg/dL (7.0mmol/L) olması. Ölçüm en az 8 saatlik açlık sonrası yapılmalıdır.
2. DM semptomları (poliüri, polidipsi, polifaji, açıklanamayan ağırlık kaybı) ve  $\geq 200$  mg/dL (11,1mmol/L) random plazma glukoz düzeyi olması. Ölçüm günün herhangi bir saatinde, öğüne bakılmaksızın yapılmalıdır.
3. Oral glukoz tolerans testi sırasında 2. saat plazma glukoz düzeyi  $\geq 200$  mg/dL (11,1mmol/L) olması.

T2DM'de karakteristik olarak diabet belirtileri (poliüri, polifaji, polidipsi, pruritus, kilo kaybı) ve aşırı hiperglisemi mevcuttur (açlık plazma glukozunun  $\geq 140$  mg/dL, 75-gram glukoz yüklemesinden 2 saat sonra venöz plazma glukozunun  $\geq 200$  mg/dL olması). GDM için kriterler çeşitlidir, ama oral glukoz yüklemesi ve sonrasında plazma glukoz ölçümü gerekir (5, 54, 55).

### 2.1.5.FİZYOPATOLOJİSİ

DM hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır. Fakat karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasını birlikte etkiler. Bu metabolik hastalığa sebep olan birbirinden farklı bir çok fizyopatolojik faktör ve mekanizma vardır.

DM temel olarak karbonhidrat alınımını takiben kan glukoz düzeylerini kontrol eden üç temel fizyolojik olayın birbirleriyle ilişkisi ile ortaya çıkar (6, 15, 16, 28):

1. Pankreas  $\beta$ -hücrelerinden insülin salgılanma ( $\beta$ -hücre işlevi) sürecinin etkilenmesine bağlı pankreas  $\beta$ -hücrelerinden **insülin sekresyonunda defekt**,
2. Karaciğerde endojen glukoz üretiminin (hepatosit işlevi) insüline bağlı olarak baskılanması sürecinin etkilenmesine bağlı karaciğerde frenlenemeyen **aşırı glukoneogenez**,
3. Başta kas olmak üzere diğer dokularda glukoz alımının insülin aracılığıyla uyarılması (insülin duyarlılığı) sürecinin etkilenmesine bağlı periferdeki hücrelerin **insülin direnci** (insülin reseptörlerinde azalma, afinitelerinde azalma, hücre içinde glukoz taşınmasını bozan bağlanma sonrası defektler vs),



### 2.1.5.1. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Fiziopatolojisi

T1DM'de temel fiziopatolojik faktör selektif  $\beta$ -hücre yıkımına bağlı insülin azlığı veya yokluğudur. Bu, genetik zeminde (HLA DR3 ve DR4) çeşitli uyaranlarla (viral, şimik, psişik) oluşan otoimmüniteye bağlı gerçekleşir (3, 6, 7).

T1DM'nin immünopatogenezi genetik elverişlilik, tetikleme, otoaktivite, insülin salgı bozukluğu, kimyasal DM, aşık DM olmak üzere aşamalı olarak ilerler.

### 2.1.5.2. Tip 2 Diabetes Mellitus'un Fiziopatolojisi

Kronik metabolik bir hastalık olan T2DM'da çeşitli fiziopatolojik mekanizmaların biri veya bir kaçının rol oynaması sonucu temel olarak insülin salgılanmasındaki ve etkisindeki eksiklikler (insülin direnci) hiperglisemiyle sonuçlanır. (3,6,8).

T2DM aşamalı olarak ilerleyen bir hastalıktır (8). Bu, şu şekilde gerçekleşir:

#### *İnsülin Direnci:*

T2DM'li hastaların çoğunda insülin direnci vardır ve bu, hiperglisemi gelişmeden önce de var olabilir. Periferik dokularda insüline yetersiz yanıt, başta kas olmak üzere glukoz alımını azaltır. Bu durum dolaşımdaki glukoz konsantrasyonunu artırır. Hiperglisemi, tekrar hiperinsülinemi ile sonuçlanan pankreasın insülin sekresyonunu uyarır. T2DM gelişmeden önce hastalığın erken dönemlerinde, pankreas insülin direnci ile başedebilir ve kan glukoz konsantrasyonunu belirli aralıkta tutmayı (öglisemi) sürdürebilir (3, 6, 9).

#### *$\beta$ -hücre Yetersizliği:*

Açlık hiperglisemisi  $\beta$ -hücre işlevinde progressif azalmaya yol açar. Glukoz intoleransı ve DM ortaya çıktığında ise, pankreas artık vücudun insüline olan direnci ile başedemez duruma gelir ve hiperglisemi oluşur (kaçınılamaz  $\beta$ -hücre yetersizliği) (3, 6, 9).

İnsülin duyarlılığı ve  $\beta$ -hücre işlevi birbiriyle yakından ilişkilidir. Hastalık sürecini çözümlenmeye çalışırken, bu iki temel olayı birlikte ele almak gerektiği anlaşılmıştır (3, 6, 8, 9). İnsülin direnci T2DM'de bulunsa da, hastalığı ortaya çıkarmakta yetersizdir. Ancak  $\beta$ -hücre disfonksiyonuyla birlikte olursa DM tablosu gelişir. İnsülin duyarlılığı  $\beta$ -hücre işlevinin temel belirleyicisidir. İnsüline duyarlı olanlar insüline düşük yanıt verirken, insüline dirençli olanların insüline yüksek yanıt vermesi, ancak hiperbolik ilişki ile açıklanır.

T2DM’de insülin direncinde etkili olan sebep, hastalığın kalıtsal doğası ve genetik faktörlerin varlığıdır. Karbonhidrat ve yağ metabolizmasından sorumlu bir çok aday gen ve sinyal proteini araştırılmaya devam edilmektedir. Buna bağlı olarak farklı mekanizmaların rol oynadığı T2DM’in alt tiplerinin olması olasıdır (9, 10, 11).

Obezitenin insülin direncine sebep olduğu uzun süredir bilinmektedir (3, 6, 10). Özellikle santral yağlanma bulunan hastalarda çeşitli oranlarda insülin direnci vardır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda glukoz homeostazı için adipositlerin ve serbest yağ asitlerinin önemli olduğu saptanmıştır. Bu ilişkiyi daha iyi anlamaya yönelik moleküler mekanizmaları aydınlatmak için çeşitli araştırmalar yayınlanmaya başlamıştır (11).

Her hangi bir hastalığın uygun tedavisi hastalığın fizyopatolojisi anlaşıldığı oranda doğru yapılır. Günümüzde henüz fizyopatolojisi tam çözülememiş olan DM’de tedavi, sadece kan glukoz düzeyi ayarlaması ve komplikasyon gelişimini engelleme/geciktirme amacı üzerine odaklanmıştır. Mevcut tedavilerin hiç biri insülin direncini kaldıramamakta ve beta hücre yetersizliğinin ilerlemesini durduramamaktadır.

## **2.1.6.KOMPLİKASYONLARI**

Kronik metabolik bir hastalık olan DM, seyri sırasında akut ve kronik çeşitli komplikasyonlara sebep olur (3, 6, 8).

### **2.1.6.1.Komplikasyonlarının Sınıflandırılması**

DM komplikasyonları Tablo 3’deki gibi sınıflandırılabilir (3, 6, 8, 15, 16, 17, 18).

DM’nin akut metabolik komplikasyonları aniden oluşur ve yaşamı tehdit eder. Gereken miktarda insülin sağlandığı sürece akut metabolik komplikasyonların ortaya çıkışı azalır veya ortaya çıkmışsa mortalite riski azalır (3, 6, 8).

DM’nin kronik dejeneratif komplikasyonları ise, uzun dönemde oluşarak yaşam kalitesi ve süresini azaltır. Kronik dejeneratif komplikasyonların ortaya çıkışı, hiperglisemi süresiyle ilgilidir. Uzun süreli hiperglisemi bir çok doku ve organda hasarlar oluşturur. DM’li hastalarda iyi glisemi kontrolü, kronik dejeneratif komplikasyonların ortaya çıkışını azaltır veya daha geç ortaya çıkmasını sağlar (12, 13, 18).

Tablo 3: Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

<p>A. Akut Metabolik Komplikasyonlar</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Hipoglisemi koması</li><li>2. Diabetik ketoasidoz koması</li><li>3. Hiperosmolar nonketotik koma</li><li>4. Laktik asidoz koması</li></ol> <p>B. Kronik Dejeneratif Komplikasyonlar</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Mikrovasküler Komplikasyonlar<ol style="list-style-type: none"><li>a. Diabetik nöropati</li><li>b. Diabetik nefropati</li><li>c. Diabetik retinopati</li></ol></li><li>2. Makrovasküler Komplikasyonlar<ol style="list-style-type: none"><li>a. Hipertansiyon ve koroner arter hastalığı</li><li>b. Periferik vasküler hastalık ve diabetik ayak</li><li>c. Santral vasküler hastalık</li></ol></li></ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 2.1.6.2.Kronik Dejeneratif Komplikasyonları Fizyopatolojisi

DM uzun dönemde vücudun çeşitli organ ve sistemlerinde hasarlar, fonksiyon kusurları ve yetersizliklere sebep olur. DM'li bireylerde, normal bireylere göre %25 körlük, %20 böbrek yetmezliği, %20 gangrene bağlı amputasyon, %2-6 koroner arter hastalığı ve iskemik beyin hasarı riskinde artış söz konusudur (2, 3, 12, 13).

DM komplikasyonları, bozuk glisemi kontrolüne bağlı ortaya çıkan hiperglisemi ile bağlantılıdır. 1983-1993 yılları arasında yapılan "Diabetes Control ve Complication Trial" (DCCT) T1DM'de, 1988-1998 yılları arasında yapılan "United Kingdom Diabetes Prospective Study" (UKDPS) T2DM'de yoğun tedavi ile kan glukoz değerlerinin belirli aralıklara yakın değerlerde tutulmasının, uzun dönemli diabetik komplikasyonların gelişmesini geciktirdiğini saptamıştır (12,13).

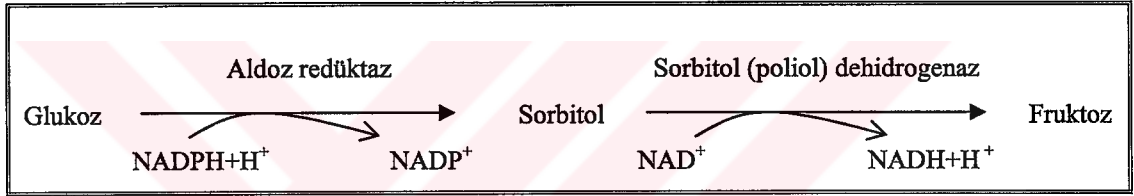
Bu bağlantıya rağmen komplikasyonlara sebep olan mekanizmalar tam olarak ortaya konamamıştır. Farklı komplikasyonların patogenezi aynı olmadığı gibi, bir komplikasyonun oluşmasında tek bir mekanizma veya bir çok farklı mekanizma etki gösterebilir. Son çalışmalara göre komplikasyonların oluşmasında suçlanan mekanizmalar Tablo 4'de yer almıştır (3, 6, 15, 16, 17).

Tablo 4: Komplikasyonların Oluşmasında Sorumlu Mekanizmalar ,

1. Poliöl (sorbitol) yolu aktivasyonu
2. Diaçilgliserol-proteinazkinaz C aktivasyonu
3. Non-enzimatik glikasyon
4. Oksidatif stres
5. Postprandial durum

#### 1. Poliöl (Sorbitol) Yolu Aktivasyonu:

DM komplikasyonlarının patogeneğinde poliöl yolunun rolü ilk kez lenste ortaya konmuştur. Hiperglisemi, deney hayvanlarında lenste sorbitol artışına ve katarakt oluşumuna sebep olmuştur. Bu yolun inhibisyonu ile de katarakt oluşumu önlenmiştir.



Şekil 1 : Poliöl Yolu

Poliöl yolunda sorbitol oluşumu ve dönüşümü şeklinde reaksiyon gerçekleşir. Birinci reaksiyonda glukozun sorbitole dönüşümü sırasında "NADPH" hidrojen donörü olarak, ikinci reaksiyonda sorbitol fruktoza okside olurken "NAD<sup>+</sup>" hidrojen akseptörü olarak kullanılır (Şekil 1).

Bu yolla glukoz kullanımı total glukoz kullanımının çok küçük bir yüzdesini oluşturur. Fakat hiperglisemi sırasında (özellikle glukoz alımı için insüline gereksinim duymayan retina, glomerül, nöron, arteriyel endotel, lens gibi dokularda) belirgin olarak hücre içi glukoz seviyeleri artar. Yükselen glukoz seviyesi bu dokularda poliöl yolunun aktivasyonunu artırarak sorbitol ve fruktoz birikimine sebep olur. Artan sorbitol, miyoinositol oluşumunu azaltarak, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesinde azalma, bazı dokularda prostaglandin yapımı artışı ve hücrede ozmotik değişiklikleri başlatarak, hücrenin şişmesi, elektrolit denge bozukluğu, hücresel proteinlerin presipitasyonu ve hücresel fonksiyonların bozulmasıyla sonuçlanır (Şekil 2) (3, 13, 14, 15, 16, 17).

Daha sonra yapılan araştırmalar poliöl yolunun önemini hücre içi sorbitol birikiminden ziyade NADH tüketimine bağlı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Poliöl yolunda oluşan NADH'a

bağlı hücrenin NADH/ NAD<sup>+</sup> oranında artış, hücrenin oksidatif strese maruziyetine sebep olabilir. Ama poliol yolu ile glukozun ancak %5'ini kullandığı için hücrenin total redoks değişimine katkısı olamaz (17, 19).

Erken dönemde hücrede poliol yoluna bağlı biyokimyasal değişiklikler sonucu sorbitol birikiminin aldoz redüktaz inhibitörleriyle önlenemediği gösterilmiştir. Fakat bu, sorbitole dönüşemeyen glukozun hiperglisemiye katkısı olmasına ve diabetik komplikasyonların oluşumunu önlemeden ziyade, ilerlemesini artırıcı etkiye sebep olacaktır.

Ayrıca poliol yolu sırasında oluşan fruktozun, proteinlere nonenzimatik olarak bağlanarak DM'de nonenzimatik glikasyona katkıda bulunabileceği konusunda (fruktasyon) tartışmalar da vardır. Fakat glukoz metabolizmasında az bir orana sahip bu yoldan oluşan fruktozun miktarının az olacağı düşünüldüğünde nonenzimatik glikasyona katkısı da önemsiz olacaktır.

### *2. Diaçilgliserol (DAG) - Proteinazkinaz C (PKC) Yolu Aktivasyonu:*

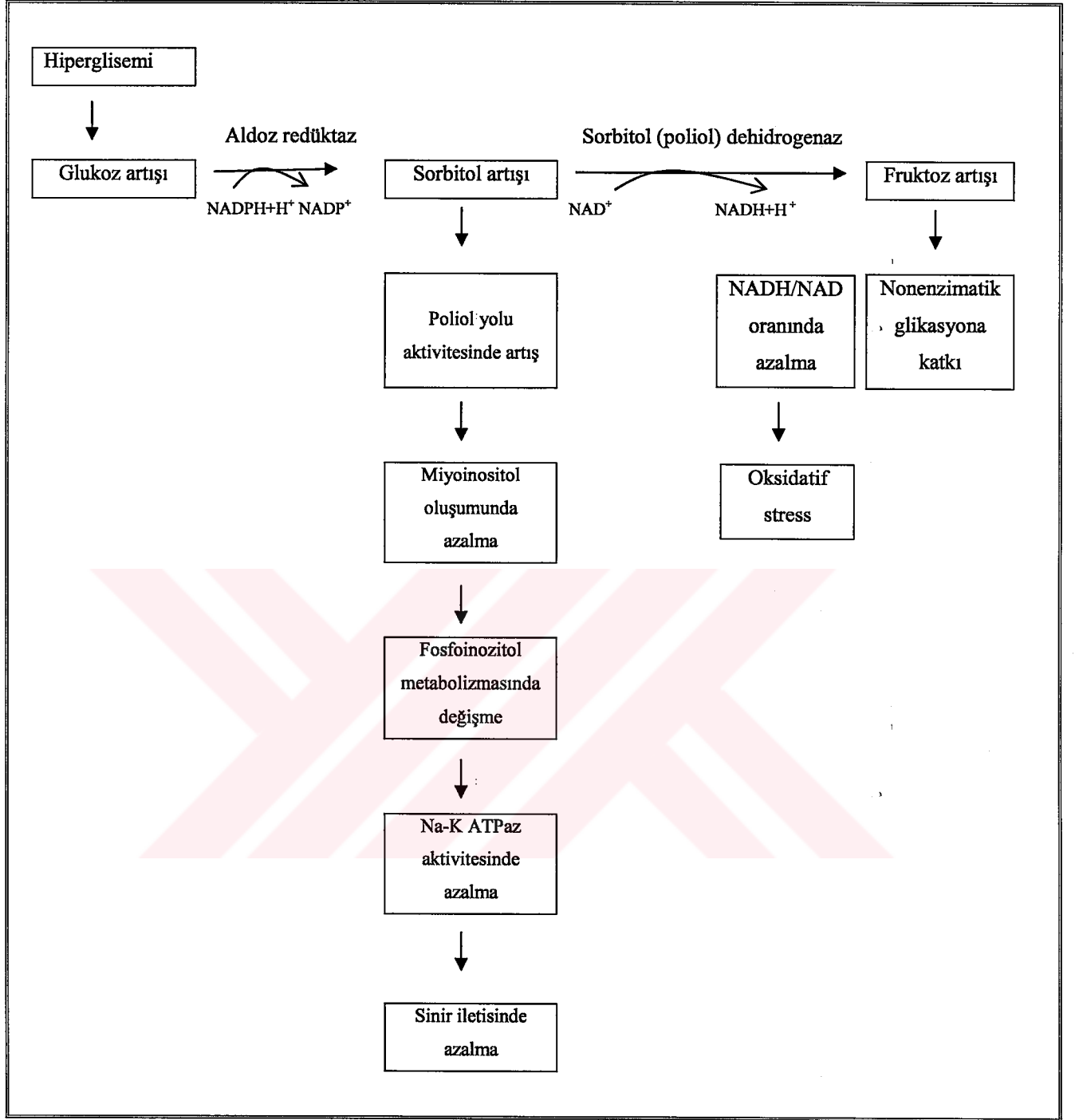
PKC vasküler permeabilite, kontraktilite, koagülasyon gibi süreçlerde rolü olan bir enzimdir. Hiperglisemi ve asidoz varlığında PKC hücre içinde artışı, DAG'ı uyararak DAG-PKC sinyal ileti sistemini aktive eder ve dokularda kontraktilite bozukluğu, koagülasyona eğilim, büyüme faktörlerine hassasiyet, dokuda şişme ve vakualizasyona sebep olur.

Hiperglisemiye bağlı glikoliz artışı, glukozun DAG prekürsörlerine metabolize oluşuna, bu da DAG sentezinin artışına sebep olur. DAG artışı ve PKC aktivasyonunun uzun dönemde tüm vasküler hücre tiplerinde arttığı gösterilmiştir (15, 16, 17).

Ayrıca PKC aktivasyonu, hücrel fosfolipaz A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) aktivitesi artışına bağlı, araşidonik asid ve PGE<sub>2</sub> seviyelerinde artış ile Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesinde azalmaya sebep olur. PKC ve cPLA<sub>2</sub> inhibitörleriyle bu etki önlenir. Ayrıca PKC aktivasyonunun bazal membranda bazı genlerin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir. E vitamininin, DAG seviyesini azaltarak, PKC aktivasyonunu önlediği saptanmıştır (16, 17).

### *3. Nonenzimatik Glikasyon:*

DM'de yüksek glukoz konsantrasyonuna maruz bırakılan proteinler nonenzimatik glikasyona uğrarlar. Bu düzensiz glikasyon sonucunda proteinlerin yapısı ve fonksiyonlarında değişiklikler oluşur. Bu durum kan şekerinin regülasyonu ile önlenir (15, 16, 18).



Şekil 2: Diabetes Mellitus'ta Fizyopatolojik Mekanizmalar

#### 4. Oksidatif Stres:

DM'de glukoz bir dizi mekanizma aracılığıyla serbest radikaller oluşturabilmektedir. (glukoz otooksidasyonu, nonenzimatik glikasyon, hücre içi sorbitol yolu aktivasyonu) Giderek artan serbet radikal oluşumuna karşın, radikal tutucu sistemlerde azalma sebebiyle oksidatif stres oluşur. Oksidatif strese bağlı oluşan serbest radikaller, DM

komplkasyonlarının patogeneğinde önemlidir. Antioksidan tedavinin komplkasyonların gelişimini geciktirdiği saptanmıştır (15, 16, 19).

### *5.Postprandial Durum:*

Eski dönemlerde insanlar yemek yemekten çok, yiyecek bulmak için uğraşırladı. Günümüzde bunun tam tersi geçerlidir; yiyecek bol miktarda bulunmaktadır ve insanlar sık ve iyi yemek yemektedir. Bu sebeple özellikle gelişmiş ülkelerde insanlar yaşamlarının büyük bir kısmını postprandial durumda geçirmektedir. Postprandial durum, glukoz absorpsiyonunun 6-8 saat civarında sürmesi ile karakterizedir. Günde 3 ğn yemek yendiği taktirde gerçek açlık için geriye sadece birkaç saat kalmaktadır. Bu sebeple, zaman açısından postprandial durum açlık durumuna ağır basmaktadır.

Postprandial durumun öneminin fark edilmesi yenidir. Postprandial fazda kan glukoz ve lipid düzeylerinde, koagülasyon, endotel fonksiyonunda değişiklikler oluşmaktadır. Bunların bir kısmı oksitleyici radikallerin oluşumuna bağlıdır. Sağlıklı bireyler mevcut savunma mekanizmalarıyla bunu telafi edebilirler. DM’li bireylerde sık hiperglisemi epizodlarının yol açtığı ek oksidatif stres bu dengenin yürütülmesini zorlaştırır. Postprandial fazda aşırı lipid peroksitleri ve glike proteinlerin oluştuğu gösterilmiştir. Postprandial hipergliseminin kontrol edilmesinin çok önemli olduğu ve terapötik bir hedef olması gerektiği ortaya konmuştur (15, 16, 20).

## **2.2.NONENZİMATİK GLİKASYON**

### **2.2.1.Terminolojisi ve Tanımı**

“International Union of Pure and Applied Chemistry – International Union of Biochemistry” (IUPAC-IUB), sentez şekli ve yapısına bakılmaksızın proteinlere karbonhidrat bakiyelerinin eklenmesi işlemine “glükasyon (glycation)” teriminin kullanılmasını önermektedir. Daha dar anlamda proteinlerle karbonhidratlar arasında enzim katalizli glikozidik bağ oluşması ise “glikozilasyon (glycosylation)” olarak adlandırılmaktadır. Fakat bu terim “enzimatik ve nonenzimatik glikozilasyon” ifadeleri ile beraber, farklılık giderilerek kullanıma girmiştir. Yayınlarda, IUPAC-IUB’nin önerdiği şekilde artık glükasyon terimi kullanılması yaygındır. Fakat günlük kullanımlarda glikozilasyon terimi de aynı amaçla sık olarak kullanılmaktadır (21).

## 2.2.2.Kimyası

İnvivo koşullarda glikasyon iki şekilde oluşmaktadır (Tablo 5).

Tablo 5: Glikasyon Çeşitleri

- |                           |
|---------------------------|
| 1. Enzimatik Glikasyon    |
| 2. Nonenzimatik Glikasyon |

### 2.2.2.1.Enzimatik Glikasyon

Hücre içinde proteinlerin enzimatik glikasyonu posttranslasyonel modifikasyondur. Bu sayede proteinlerin yapısal ve fonksiyonel çeşitliliği artar. İmmunoglobulinler, hücre yüzey reseptörleri, kollagen, membran proteinleri bu şekilde sentezlenirler.

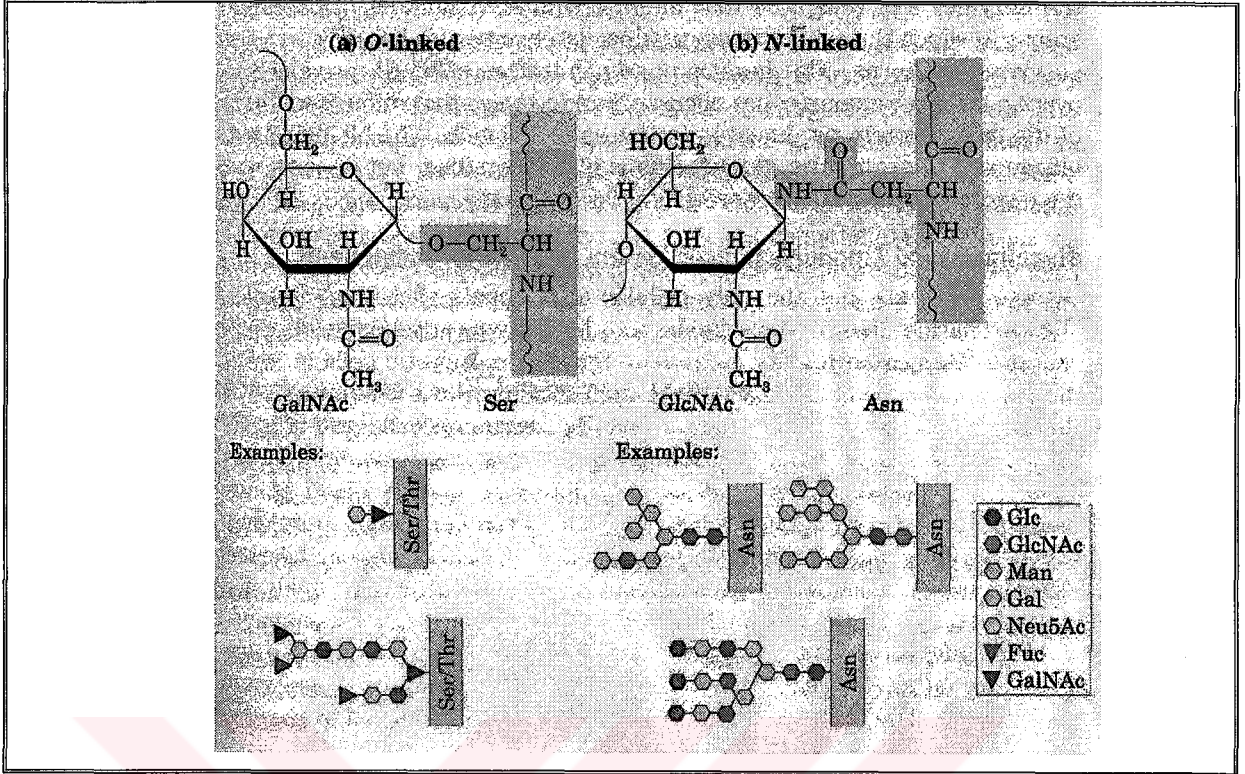
Posttranslasyonel modifikasyon süreci; proteinlerin endoplasmik retikulumda sentezlenmesinden sonra hücre içi membran sistemlerinde gerçekleşir (Golgi, veziküller). Bu proteinlerin ileride üstlenilecek göreve göre hücre yüzeyine, hücre dışı ortama, lizozomlara doğru yol almalarını sağlar.

Ökaryotik hücrelerde enzimatik glikasyonla oluşan proteinlere en iyi örnek glikoproteinlerdir. Glikoprotein molekülünün (protein genellikle globulin yapısında) spesifik aminoasidlerine “glikozil transferaz” enzimi aracılığıyla oligosakkarit üniteleri kovalent bağla bağlanır. Glikoproteinlerin yapısında, “glikan” da denilen bu şeker üniteleri total ağırlığın %2-60’sı gibi değişik oranlarda bulunurlar. Çoğunlukla heksoz (mannoz, galaktoz, daha az glukoz, n-asetilheksozaminler, sialik asid, l-fukoz) yapısında olan bu üniteler, genelde dallanır ve 15 glikozil bakiyesi içerirler.

Enzimatik glikasyon ile iki çeşit bağ oluşabilir (Şekil 3):

1. *O-glikozidik bağ*: Serin, treonin, hidrosilizin, hidrosiprolin gibi spesifik aminoasidlerin hidroksil (-OH) grupları ile oligosakkaritlerin bağ oluşturmasıdır.
2. *N-glikozidik bağ*: Asparagin gibi spesifik aminoasidlerin amid (-NH) grupları ile oligosakkaritlerin bağ oluşturmasıdır.





Şekil 3: Glikoproteinlerde Oligosakkarit Bağları

Posttranslasyonel modifikasyon sırasında oluşan enzimatik glikasyon ile proteinlerin biyolojik çeşitliliği artar. Ayrıca enzimatik glikasyon, proteinlerin çözünürlüğünün ve proteolize direncinin artmasını da sağlar (15, 16, 22, 23).

#### 2.2.2.2. Nonenzimatik Glikasyon

Proteinlerin nonenzimatik glikasyonu, glukozun amino gruplarına nükleofilik bağlanmasıyla gerçekleşir. Glukozun eklenme yeri ya aminoasidin lizin rezidülerinin epsilon amino grubu veya N-terminal amino rezidülerinin alfa amino gruplarıdır. Böylece stabil olmayan schiff bazı oluşur. Bu baz hem kapalı (glikozilamin) hem de açık (aldimin) formunda olabilir. Labil schiff baz seviyesi, saatler içinde glukoz seviyesi ile dengeye ulaşır. Schiff bazı daha sonra haftalar süren yavaş bir süreçte kimyasal düzenleme ile daha stabil Amadori ürününe dönüşür. Bu kimyasal düzenlemeye "Amadori Rearrangement", bu reaksiyona "Amadori Reaksiyonu" ismi verilir. Amadori ürünü hem kapalı (1-imino-1-deoksiketo) hem de açık (ketamin) formunda olabilir. Amadori ürünlerinin dengeye ulaşması ortalama 28 gündür.

İnvivo ve invitro oluşan bu ürünler protein çeşidine göre saptanmıştır. Hemoglobin, albumin, immunoglobulin gibi plazma proteinleri; lens, glomerül bazal membran, aort, koroner damarı gibi yerlerdeki doku proteinleri bunlara örnektir (Tablo 6).

Uzun ömürlü veya düşük sirkülasyon hızına sahip yapısal proteinlerde Amadori ürünleri yavaş seyreden irreversibl bir reaksiyonla “Advanced Glycation Endproducts”a (ileri glikasyon ürünleri) (AGEs) dönüşürler. Glukoz konsantrasyonu ile orantılı şekilde oluşan bu ürünler Amadoriden farklı olarak irreversibl olarak oluştuğu için birikirler. İleri glikasyon ürünlerinin birikimi DM’li hastalarda uzun dönemli komplikasyonların gelişmesinde ve yaşlanma ile oluşan fizyopatolojik değişikliklerin oluşmasında etkilidir.

Nonenzimatik glikasyon reaksiyonu farklı olarak enzimatik kontrol altında değildir, zamana ve glukoz konsantrasyonuna bağımlıdır. Özellikle kan şekeri düzeyi iyi regüle edilemeyen DM’li hastalarda proteinler, yüksek glukoz konsantrasyonu ile uzun süre nonenzimatik glikasyon etkisi altında kalırlar.

### 2.2.3.Tarihçesi

Nonenzimatik glikasyonu, ilk olarak 1912’de Louis Maillard aminoasidlerin şekerlerle ısıtılmasıyla “browning” olayının oluştuğunu tespit ederek tanımlamıştır (Maillard Reaksiyonu) (24). Uzun yıllar besin endüstrisi dışında önemi anlaşılamayan bu reaksiyon, invivo ilk kez 1968’de Bookchin ve Gallop tarafından hemoglobin üzerinde gösterilmiştir. Araştırmacılar minör hemoglobin komponenti olan HbA<sub>1c</sub>’nin beta zincirindeki valin terminaline heksoz molekülü bağlandığını saptamışlardır (25). Daha sonra yapılan araştırmalarda DM’de organizmadaki bir çok proteinin nonenzimatik glikasyona uğradığı saptanmıştır (şekil 6) (18, 26, 27).

### 2.2.4.Mekanizması

Proteinlerin serbest amino grupları ile indirgeyici şekerler arası direkt etkileşim mümkündür. Buna en iyi örnek glukozun serum albuminiyle inkübasyonunda, albuminin serbest amino gruplarının sayısında zamanla ilerleyen bir azalma tespit edilmesidir (27, 50).

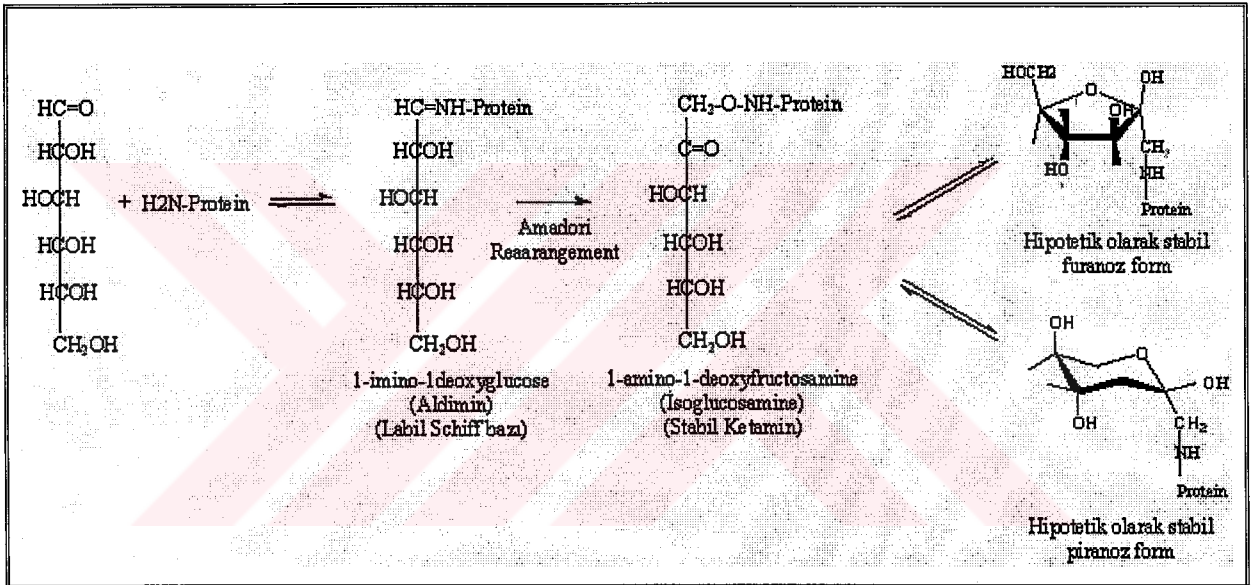
Nonenzimatik glikasyon reaksiyonu üç aşamalı bir reaksiyondur (Şekil 4) (6, 15, 16, 28):

*1.aşama:* Proteinin serbest amino grubu ile aldehit yapısındaki şekerin asiklik karbonil grubu etkileşimi sonucu shiff bazı (aldimin) oluşumudur. Bu reaksiyon bazik ortamda gerçekleşir,

asidik ortamda ürün parçalanır. Oluşan schiff bazı kararlı değildir; kısa sürede tekrar değişime uğrar. Bu ürün ya tekrar geriye protein ve şekere döndürür veya ileriye daha kararlı bir bileşik haline gelir.

**2.aşama:** Amadori rearrangement'i ile gerçekleşen, izomerizasyon ile daha kararlı Amadori ürünü oluşumudur. Amadori ürünü daha kararlıdır ve memelilerdeki enzimlerle parçalanamaz; proteinin yarı ömrüne bağlı olarak kalıcıdır.

**3.aşama:** Yarılanma ömrü uzun proteinlerde ileri glikasyon ürünleri oluşumudur. Bu reaksiyon irreversibldır ve proteinlerin yapı- fonksiyonunu bozar. DM ve yaşlanma gibi süreçlerin fizyopatolojisinde rolü vardır.



Şekil 4: Nonenzimatik Glikasyon Reaksiyonu

Proteinlerin nonenzimatik glikasyona uğrayan aminoasid grupları selektiftir. Bu reaksiyonu başta lizin bakiyelerinin epsilon amino grupları olmak üzere, sadece sınırlı bir grup verir. Fakat nonenzimatik glikasyon bölgesinin belirlenmesinde proteinin primer yapısı ana belirleyici değildir. Proteinin üç boyutlu konformasyonel özelliklerine bağlı olarak bu grupların ulaşılabilir olması da önem taşır (26, 27).

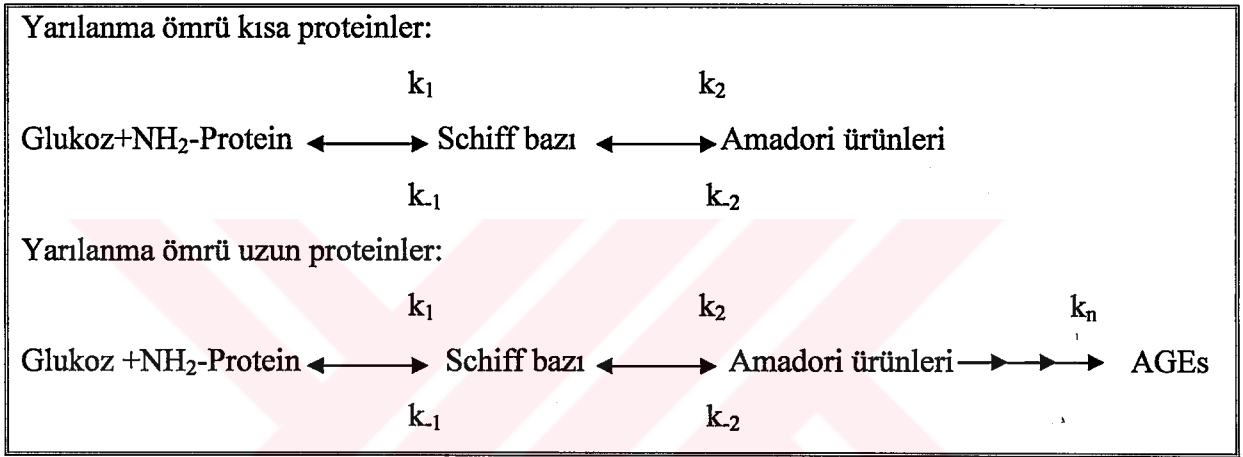
### 2.2.5.Çeşitleri

Nonenzimatik glikasyon, proteinlerin yarılanma ömrüne göre iki çeşittir:

### 2.2.5.1. Yarı Ömrü Kısa Proteinlerin Nonenzimatik Glikasyonu

Yarı ömrü gün ve haftalarla sınırlı proteinlerin uğradığı nonenzimatik glikasyondur.

Ortamdaki glukoz konsantrasyonuyla orantılı olarak schiff bazı oluşumu hızla bir dengeye ulaşır. Bu aşamada schiff bazının oluşum ( $k_1$ ) ile yıkılımı ( $k_{-1}$ ) yaklaşık olarak eşittir. Daha sonra kararsız schiff bazı Amadori reaarangemet'ine uğrayarak, reversibl şeker-protein kompleksi (Amadori ürünü) oluşur ( $k_2$ ) ve birikir. Bu, haftalar süren bir sürede gerçekleşir ( $k_2$ ,  $k_1$ 'in %1-2si kadardır) ve bu sürede Amadori ürününün birikimi dengeye ulaşır (Şekil 5) (18).



Şekil 5: Kısa Ve Uzun Ömürlü Proteinlerde Nonenzimatik Glikasyon

### 2.2.5.2. Yarı Ömrü Uzun Proteinlerin Nonenzimatik Glikasyonu

Yarı ömrü ay ve yıllar olan proteinlerin uğradığı nonenzimatik glikasyondur.

Kısa yarı ömürlü proteinlerin Amadori ürününün dengeye ulaşması için gerekli zaman yarı ömürlerinden kısa veya eşittir. Fakat bunun aksine yarı ömrü uzun proteinlerde (şekil 5) ileri glikasyon ürünleri oluşur ( $k_n$ ) ve birikir. Bu bir seri rearrangement reaksiyonudur. Özellikle organizmadaki fizyolojik şartlarda çok yavaş gerçekleşir. İleri glikasyon ürünleri kahverengi pigment oluşturma ve floresans verme özellikleriyle kalitatif olarak tespit edilirler. Ayrıca reaksiyon irreversibl olup, oluşan ileri glikasyon ürünleri protein ömrü boyunca kaldığından, sürekli olarak birikir. Organizmada nonenzimatik glikasyona uğradığı saptanmış çeşitli proteinler Tablo 6'da görülmektedir (18).

Tablo 6: Organizmada Nonenzimatik Glikasyona Uğradığı Saptanan Bazı Proteinler

• Albumin	• HDL
• Antitrombin III	• Hemoglobin
• Atepsin B	• Kemik proteinleri
• $\beta$ -NAC-D-glukozaminidaz	• Kollagen
• Elastin	• Koroner arter proteinleri
• Endotelial hücre membran proteinleri	• LDL
• Eritrosit membran proteinleri	• Lens kristalini
• Ferritin	• Lens kapsül proteinleri
• Fibrinojen	• Myelin
• Fibrin	• Pankreatik RNAz
• Glomerül bazal membranı	• Tubulin

### 2.2.6.Etkileyen Faktörler

Nonenzimatik glikasyon spontan kimyasal bir reaksiyondur. Fakat bu kimyasal reaksiyon da belirli ortam şartlarında oluşur ve etkileyen çeşitli faktörler vardır (Tablo 7) (18).

Tablo 7: Nonenzimatik Glikasyonu Etkileyen Faktörler

1. pH
2. Sıcaklık
3. Protein konsantrasyonu
4. $\text{NH}_2$ mikro çevresi
5. Glukoz konsantrasyonu
6. İnkübasyon zamanı

1. *pH*: Amadori ürünü oluşumu pH'ın alkali tarafa doğru kaymasına paralel artar. Reaksiyon optimum pH=10,4 civarında gerçekleşir. Bu, glukozla reaksiyona girecek proteindeki amino gruplarının yüksüz olduğu pH'dır.
2. *Sıcaklık*: Amadori ürünü oluşumunu artırır. Fakat sıcaklık artışının sürmesi protein yapısını bozar.
3. *Protein konsantrasyonu*: Glukozla reaksiyona girecek amino grubunda artmaya sebep olur.

4. *Amino grubunun polipeptid zincirindeki yeri ve buna bağlı mikroçevresi:* Serbest amino grubu sayısı arttıkça glukozla reaksiyona girecek amino grubunda artma nonenzimatik glikasyonu artırır.
5. *Glukoz konsantrasyonu:* Proteinle reaksiyona girecek glukozun yüksek olması nonenzimatik glikasyonu artırır.
6. *İnkübasyon zamanı:* Proteinle glukozun etkileşim süresi uzadıkça nonenzimatik glikasyon miktarı artar.

İnvivo ve invitro şartlarda nonenzimatik glikasyonu etkileyen faktörler değişkendir (Tablo 8). İnvivo şartlarda pH, sıcaklık, protein konsantrasyonu, NH<sub>2</sub> mikro çevresi sabittir. Ancak klinik açıdan önem taşıyan, nonenzimatik glikasyonda değişikliğe en fazla yol açan faktörler; glukoz konsantrasyonu ve inkübasyon zamanıdır. Özellikle DM'de glisemi kontrolünün bozuk olması (plazma glukoz konsantrasyonunun yüksekliği ve bunun süresi) nonenzimatik glikasyonu artırarak, diabetik komplikasyonların gelişiminde rol oynar (6, 15, 16, 18, 28 ).

Tablo 8: İnvivo Ve İnvitro Şartlarda Nonenzimatik Glikasyon Reaksiyonu Etkileyen Faktörler

	İnvitro şartlarda	İnvivo şartlarda
pH	Değişken	Sabit (fizyolojik pH'da)
Sıcaklık	Değişken	Sabit (37°C)
Protein konsantrasyonu	Değişken	Sabit
NH <sub>2</sub> mikro çevresi	Değişken	Sabit
Glukoz konsantrasyonu	Değişken	Sabit (ortalama glukoz konsantrasyonu)
İnkübasyon zamanı	Değişken	Postprandial hiperglisemi süresi Protein yarı ömrü

### 2.2.7.Etkileri

Organizmada bir çok proteinin nonenzimatik glikasyona uğradığı saptanmıştır (Tablo 6) (18) Proteinlerin yapılarındaki bu değişiklik fonksiyonlarını da etkiler. Nonenzimatik glikasyonun etkilediği fizyolojik süreçlerden bazıları Tablo 9'de verilmiştir (6 ,15 ,16 ,17, 22, 23, 28).

Tablo 9: Nonenzimatik Glikasyonun Etkilediği Fizyolojik Süreçlerden Bazıları

- Enzim aktivitesi
- Regülatuar moleküllere bağlanma
- Proteinlerde çapraz bağlanma
- Proteolize duyarlılık
- Nükleik asid fonksiyonları
- Makromoleküler tanınma ve endositoz, immünolojik özellikler
- Kalp kasına etkiler
- Kan damarlarına etkiler
- Oksidan ve antioksidan sisteme etkiler

Enzimler aslında relatif olarak kısa ömürlü proteinler olsa da nonenzimatik glikasyona uğrayabilir ve çoğunlukla katalitik fonksiyonlarında değişiklikler oluşmayabilir. Ama reversibl glukoz-protein schiff bazı bileşikleri çok hızlı oluşurlar; konsantrasyonları artarsa enzimlerin katalitik etkilerini değiştirirler. Özellikle aktif bölgesinde lizin bakiyesi taşıyor ve bu normal fonksiyon gösterebilmesi için gerekliyse, bu lizinin glikasyona uğraması inaktivasyona sebep olabilir. Ribonükleaz A'da 41.pozisyondaki lizinin glikozillenmesi böyle bir inaktivasyona sebep olur. Sülfidril grubu içeren katepsin, papain gibi proteazlar da bu şekilde inaktifleşirler.  $\beta$ -N-asetil-D-glukozaminidaz gibi bazı enzimlerde ise nonenzimatik glikasyonla üç boyutlu konformasyonel yapıları bozularak inaktivasyon gerçekleşir.

Nonenzimatik glikasyon, regülatuar proteinleri veya onların bağlandığı proteinleri etkileyerek efektör etki oluşmasını bozabilir. Hemoglobin ile 2,3-difosfogliserat ve antitrombin III 'ün etkilenmeleri bu şekildedir.

Nonenzimatik glikasyona bağlı lens proteinlerinde protein molekülleri arasında çapraz bağ oluşumu ile protein agregasyonun sonucunda katarakt oluşur.

Nonenzimatik glikasyona bağlı kollajende çözünürlük kaybı, elastisite azalması ve proteolitik enzimlere duyarlılıkta azalma oluşur.

Nonenzimatik glikasyona bağlı histonların, regülatuar proteinlerin, enzimlerin etkilenmesi sonucunda DNA zincir kırıkları, DNA tamir defektleri, replikasyon ve transkripsiyon kusurları ortaya çıkar.

Nonenzimatik glikasyona bağlı olarak makrofajların makromolekülleri tanıma ve endositozunda kusurlar gelişir. Bu ileri glikasyon ürünlerinin makrofaj reseptörlerine bağlanması asıl bağlanmaları gereken moleküllere bağlanmalarını etkiler (18, 44).

Kalp sarkolemma proteinlerinde nonenzimatik glikasyona bağlı etkilenmeyle kardiyomiyopatilere sebep olabileceği düşünülüyor.

Nonenzimatik glikasyona bağlı kapillerde tıkanma ve arteriollerde daralma, trombosit adezyonu - agregasyonunda artma oluşur.

Nonenzimatik glikasyon hem serbest radikal kaynağı oksidan etkisi, hem de antioksidan enzimlerin fonksiyonlarını bozarak antioksidan savunma sistemini zayıflatıcı etkisiyle genel olarak invivo koşullarda oksidan stres yaratır. Antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktazın nonenzimatik glikasyonla aktivitelerinin bozulduğu saptanmıştır. Ayrıca glukoz, diğer  $\alpha$ -hidroksi aldehyitler ve ketoaldehyitlere benzer şekilde oksitlenirken hidrojen peroksid, hidroksil radikali gibi ara ürünler ortaya çıkar. Ayrıca glukozun kimyasal oksidasyonu da buna eklenince proteinlerdeki nonenzimatik glikasyonla gelişen hasara oksidan ürünlerin de etkisi eklenir. Bu durum, DM gibi hastalıkların fizyopatolojisinde önemlidir (19).

#### **2.2.8.Diabetes Mellitus'ta Nonenzimatik Glikasyon**

Hücre içinde proteinlerin enzimatik glikasyonu proteinlerin yapısal ve fonksiyonel çeşitliliğini artıran posttranslasyonel modifikasyondur. Ama yüksek glukoz konsantrasyonuna maruz kalan proteinler spontan nonenzimatik glikasyona uğrarlar. Bu düzensiz glikasyon sonucunda proteinlerin yapısı ve fonksiyonlarında değişiklikler oluşur. Bu durum insülinin kan şekerini regülasyonu ile önlenir. Ayrıca insülin gerektiren dokular hiperglisemiye rağmen hücre içine glukoz giremediğinden glikasyondan korunur. Ama glukozun hücreye alınmasının insüline bağlı olmadığı dokularda glukoz, hücre içine girerek proteinleri nonenzimatik glikasyona uğratar (eritrositler, beyin, böbrek, lens, periferik sinirler).

Nonenzimatik glikasyon DM'nin komplikasyonlarının patogeneğinde en etkili faktörlerden biridir. Nonenzimatik glikasyon, hipergliseminin şiddeti ve süresi, dokuların glukozu geçirgenliği, protein yarı ömrü, proteinlerdeki serbest amino grubu sayısı ile yakından ilgilidir (Tablo 7) (18).

Nonenzimatik glikasyonla oluşan ileri glikasyon ürünlerinin yapı, fonksiyon ve metabolizması etkilenir. Bu sürece bağlı olarak ilerleyici tarzda çeşitli derecelerde dokularda



yapı ve fonksiyon hasarı oluşur. Lipoproteinler, nükleik asitler, histonlar, enzimler gibi çeşitli proteinlerin yapı ve fonksiyonunda bozukluklar oluşarak atheroskleroz, mutagenез, metabolik defektler gibi çeşitli bozukluklar ortaya çıkar (Tablo 9) (6, 15, 16, 22, 23).

DM'li hastalarda ilk tanımlanması bir Amadori ürünü olan glikohemoglobinin gösterilmesiyle olmuştur. Daha sonra organizmadaki bir çok proteinin nonenzimatik glikasyona uğradığı gösterilmiştir (Tablo 6) (18).

### **2.2.9. Diabetes Mellitusta Glisemik Kontrolün Önemi ve İzlemi**

DM'li hastalarda glukoz seviyelerinin normale yakın sürdürülmesinin, uzun süreli diabetik komplikasyonların başlaması ve ilerlemesini azaltıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda uygun glisemik kontrolün sağlanmasının kısa süreli semptom ve bulguları da azalttığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (12, 13).

Glisemik kontrolün izleminde en sık kullanılan yöntemlerinden biri, kan şekeri ölçümleridir. Hatta bu amaçla “self monitoring of blood glucose” (SMBG) sistemleri geliştirilerek DM'li hastaların evde kendi kan glukoz seviyelerinin izlemeleri sağlanmıştır. Ama bu yöntem “anlık glukoz düzeyini” göstermesi sebebiyle ardı ardına yapılan ölçümlerle bir anlam kazanır; hatta bazen buna rağmen yanıtıcı olabileceğinden DM'li hastaların uzun dönemli izleminde yeterli etkinliğe sahip değildir. Bu durum, DM'li hastalarda uygun glisemik kontrolü sağlanamamasına bağlı bir çok soruna yol açabilmektedir. Bu sebeple glisemik kontrol izlemlerinde alternatif yöntemler gereklidir. Bu amaçla nonenzimatik glikasyona uğrayan proteinlerin ölçüm yöntemleri, kan glukoz izlemlerinde yardımcı olarak kullanılmaktadır (47, 48).

### **2.2.10. Diabetes Mellitus'ta Glisemik Kontrolün İzleminde Glike Proteinler**

Glike proteinlerden ilk saptanan ve daha sonra rutin izlemde glikasyonunun kantitatif göstergesi olabileceği bildirilen hemoglobindir (25). Eritrosit kemik iliğinde oluşup dolaşıma çıkmasından itibaren, hemoglobin glukozun etkisi altındadır. Hemoglobinin yarılanma ömrü, eritrosit yaşam süresine bağlı olduğundan, bu süreçte glikasyona uğrayan ortalama hemoglobin miktarı sabittir. Klinik laboratuvar rutininde DM'li hastaların plazmalarında glike hemoglobin miktarı ölçülerek geriye dönük 3 aylık periyoddaki ortalama glukoz seviyesi hakkında bilgi alınır (25, 33, 57).

Sağlıklı bir erişkinde total hemoglobinin büyük bir kısmını HbA<sub>0</sub> oluşturur. Daha küçük oranlarda değişik fraksiyonlar da vardır. Bu fraksiyonlar içinde HbA<sub>1</sub>'nin alt grubunu oluşturan HbA<sub>1c</sub>, beta zincirinin terminal valinine glukoz bağlanmasıyla oluşur. Normalde eritrositlerin 3 aylık yaşam süresince hemoglobinin yalnızca %5'i glikozillenirken, DM'li hastalarda glikasyon miktarı artar (25, 33).

Aynı mantıkla glikasyona uğrayan serum proteinleri ölçülerek de glisemi izlemi yapılabileceği düşünülmüştür. Serumdaki proteinlerin büyük miktarını albumin oluşturduğundan bu yöntem ile glikasyona uğrayan albuminin ölçüldüğünü söylemek çok da yanlış olmaz. Bu sebeple albuminin yarılanma ömrüne bağlı olarak bu süreçte glikasyona uğrayan ortalama albumin miktarı sabittir. Klinik laboratuvar rutininde, DM'li hastaların plazmalarında glikasyona uğrayan serum protein miktarı ölçülerek, geriye dönük 3-4 haftalık periyoddaki ortalama glukoz seviyesi hakkında bilgi alınır. Lizin rezidülerinin epsilon grubu ile glukoz arasındaki etkileşim sonucunda oluşan fruktozamin albuminin 3 haftalık yarılanma süresinde 188-310µM/L iken, DM'li hastalarda glikasyon miktarı artar (50, 54).

Glukoz, kan ve dokulardaki konsantrasyonuyla orantılı olarak proteinleri glikasyona uğratar. Bu açıdan vücuttaki çoğu protein potansiyel olarak glukozun etkisi altındadır. Eritrosit hemoglobini ve serum proteinlerinden başka membran proteinleri, lens kristalini gibi proteinlerin amino gruplarına glukoz nonenzimatik olarak eklenebilir (18).

## **2.3.FRUKTOZAMİN**

### **2.3.1.Plazma Proteinleri ve Albumin**

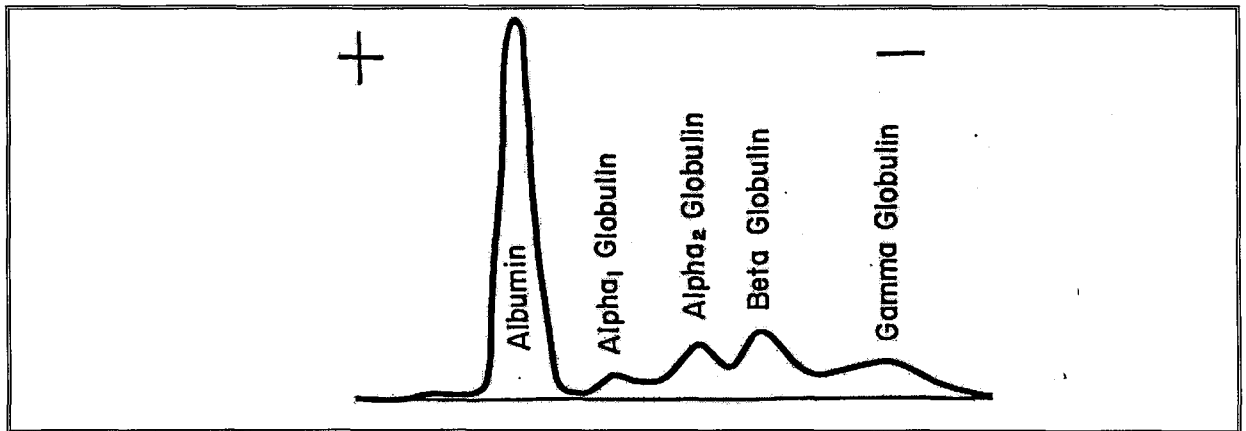
Organizmada yaşam faaliyetlerinin sürdürülmesinde bir çok fonksiyon, plazma proteinleri tarafından sağlanır (Tablo 10) (28).

Tablo 10: Serum Proteinlerinin Fonksiyonlarından Bazıları

- Kataliz sağlanması (enzimler)
- Regülasyon sağlanması (reseptör, repressör, inhibitör)
- Embriyogenez ve farklılaşma
- Hücre ve dokularının yapısını oluşturulması (yapısal proteinler)
- Onkotik basıncın sağlanması (albumin)
- Çeşitli moleküllerin taşınması (lipidler, yağ asitleri, hormonlar, kalsiyum, demir, bakır, bilirubin, ilaçlar)
- Hücre ve humoral bağışıklık sağlanması (immunoglobulinler, komplemanlar)
- Pıhtılaşma ve fibrinolizis sağlanması
- Asid-baz dengesi korunması
- Diğer spesifik fonksiyonlar (Renin anjiyotensin aldosteron sistemine etkiler, proteaz inhibitörleri gibi)

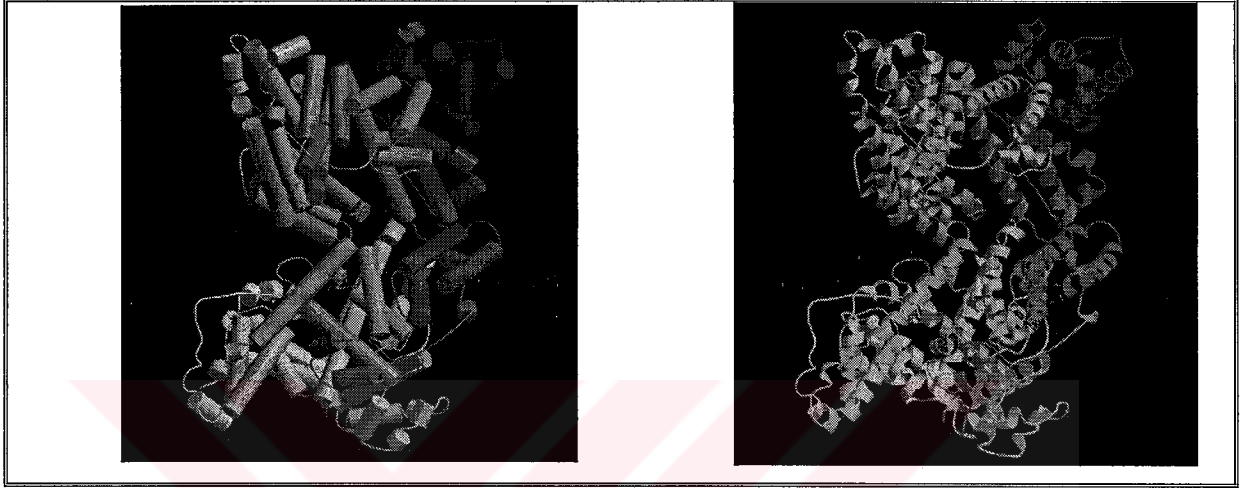
Çoğu plazma proteini karaciğerde sentezlenir (immunoglobulinler plazma hücrelerinde). Yapıları ve fonksiyonlarına bağlı olarak, yarılanma ömürlerine göre proteolitik enzimlerle metabolize olurlar.

Plazma proteinlerinin plazmada bulunma oranları üstlendikleri fonksiyona göre değişir. Fakat plazma proteinlerinin dağılımı çeşitli hastalıklarda değişebilir (Şekil 6). Serumdaki plazma proteini içeriği pıhtılaşmaya katılan fibrinojen ve pıhtılaşma faktörleri dışında plazma ile tamamen aynıdır (28).



Şekil 6: Plazma Proteinlerinin Dağılımı (Elektroforetik Diyagram)

Albumin, kanda en fazla miktarda bulunan proteindir. 585 aminoasid içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşur. Yapısında karbonhidrat bakiyesi yoktur. 66500 dalton molekül ağırlığındadır ve bu küçük yapısı sayesinde tüm boşluklara girerek, ozmotik basıncın sağlanmasını sağlar. Suda kolay çözünür ve bu sayede plazmadaki bir çok molekülün taşıyıcısıdır (28, 29).



Şekil 7: Serum Albumini Üç Boyutlu Yapısı

Karaciğerde ortalama olarak günde 12g albumin sentezlenir. Üretilen albumin plazma dışındaki vücut boşluklarında ve hücreler arası boşluklarda da devamlı değişim halindedir. Proteolitik enzimlerle metabolize edilir, çok az miktarda dışkı ve idrarla da atılır. Plazmada yarılanma ömrü ortalama 20 gündür. Kandaki ortalama miktarı 3,5-5g/dL'dir. Çeşitli durumlarda kandaki seviyesi değişir (Tablo 11) (28).

Tablo 11: Plazma Albumin Düzeyini Etkileyen Faktörler

Albumin sentezinin azaldığı durumlar

- Kalıtsal durumlar (analbuminemi)
- Karaciğer hastalıkları (siroz, kc ca)
- Malnutrisyon
- Malabsorbsiyon

Albumin metabolizmasının arttığı durumlar

- Proteinüri ile giden böbrek hastalıkları
- Travmalar ve cerrahi müdahaleler
- Enfeksiyonlar
- Maligniteler

### 2.3.2. Terminolojisi ve Tanımı

Fruktozamin, nonenzimatik glikasyona uğramış plazma proteinlerini adlandırmada kullanılan bir terimdir. 1886'da ilk kez Emil Fischer sentezleyerek "isoglikozamin" olarak isimlendirdi (30). 1982'de Johnson ve arkadaşları; glikozillenmiş plazma proteinlerinin alkali ortamda nitro blue tetrazoliumu (NBT) redükte ederek renkli diformazana dönüştürdüğünü bildirerek "fruktozamin" terimini kimya literatürüne kazandırmışlardır (31). Fruktozamin, proteinin 2-keto-heksoz şeklidir ve yapısal olarak fruktoza benzediğinden bu isim verilmiştir. Bu terim "1-amino-1-deoksifruktoz" kimyasal adını karşılamak üzere kullanılmaya başladığından itibaren kabul görmüş ve bilimsel yayınlarda kullanılmaya başlanmıştır. Serum glikoprotein, serum glike protein (SGP) terimleri de aynı amaçla kullanılmaktadır (32).

### 2.3.3. Ölçümü

Fruktozamin ölçümünde bir çok metod mevcuttur:

#### 1. Fenilhidrazin Yöntemi:

Fruktozamindeki keto grubunu, fenilhidrazinle reaksiyona girdikten sonra 350nm'de absorbans veren fenilhidrazon oluşur ve bu ürünün miktarı fruktozamin miktarıyla orantılıdır. Bu yöntem, hidrazinin diğer keto grubu içeren bileşiklerle reaksiyona girmesi sebebiyle protein saflaştırması gerektirdiğinden rutine girmemiştir (33, 34).

## 2.Hidroksimetil Furfural Yöntemi:

Fruktozamin okzalik asid veya asetik asid içinde 100°C'de 2-5 saat kaynatıldığında oluşan 5-hydroxymethylfurfuralaldehide'in (5-HMF) 443nm'deki absorpsiyonundan yararlanılır (35).

## 3.Furozin Yöntemi:

Lizinin epsilon-amino grubu, proteinlere glukozun nonenzimatik bağlandığı temel bölgedir. "C-N-(1-deoxy-D-fructosyl)-L-lysine" hidrolize ve dehidrate edildiğinde "C-N-(2-furoylmethyl)-L-lysine" yani furozin oluşur. Nonenzimatik glikozile proteinler 95°C'de 18saat 6mol/L HCl ile hidrolize edildiğinde lizin, furozin, piridoksin ve diğer ürünler oluşur. Furozin likid kromatografi ile ayrılarak 254nm ve 280nm'de ölçülebilir. Oluşan furozin fruktozamin ile oratılıdır (36, 37).

## 4.Affinite Kromatografisi Yöntemi:

Fenilboronik asid alkali koşullarda şekerin cis-diol gruplarıyla kompleks yapar. Sabit fazı m-aminofenilboronik asid olan kolondan, örnek geçirildikten sonra oluşan eluat 330 nm'de eksite edildiğinde, 440nm'de floresans emisyon verir (38, 39, 40) .

## 5.2-Tiyobarbitürik Asid (TBA) Kolorimetrik Yöntemi:

Fruktozamin 100°C'de 18-24 saat asidlerle muamele edilince, "5-hidroksimetilfurfuralaldehid" (5-HMF) oluşur. Proteinler triklorasetikasid (TCA) ile presipite edilir ve süpernatant 30dk 40°C'de tiyobarbitürik asid (TBA) ile muamele edildikten sonra oluşan ürünün absorbansı 443nm'de ölçülür (41).

## 6.Radyoimmünassay:

Hippüril lizin NaBH<sub>4</sub> ile indirgendikten sonra antijen olarak kullanılır. Hippüril lizine karşı oluşturulan antikolar, NaBH<sub>4</sub> ile indirgenmiş fruktozaminle reaksiyona girer. Reaksiyon hippüril lizine spesifiktir.

### 7.Nitrobluetetrazolium (NBT) Kolorimetrik Yöntemi:

NBT yöntemi, ilk kez Johnson tarafından geliştirildi (31). Fruktozamin alkali ortamda NBT'yi redükleyerek diformazan oluşturur ve oluşan diformazanın 530nm'de 10. ve 15. dakikalarda absorbansı ölçülür.

Fruktozamin yöntemlerinin en önemli problemlerinden biri standardizasyon zorluğu olmuştur. Stabil ve tekrarlanabilir glike protein elde etmek zor olduğundan içinde bilinen bir miktarda stabil fruktozamine sahip primer referans materyeli üretmek çok zordur. Bu sebeple ilk jenerasyon fruktozamin yöntemlerinde, her gün kalibrasyon gerektiren deoksi-1-morfilinofruktoz (DMF) içeren sekonder standartlar kullanılmıştır. Fakat DMF ve fruktozamin NBT'yi farklı oranlarda redükler ve reaksiyon ortamı da (tuz, tampon gibi) bunların reaksiyon oranlarını etkiler. Üstelik fruktozamin testi genellikle dengeye ulaşmadan sonlanır. Sonuçta, DMF standardıyla her yöntemde belirgin farklılıklar ortaya çıkar ve laboratuvarlar arası uyum da azdır. Daha sonraları ise fruktozamin gibi redoks potansiyele sahip *invivo* koşullarda da oluşan bir trioz olan dihidroksiaseton standart olarak kullanılmıştır. İkinci jenerasyon fruktozamin yöntemlerinde ise standardizasyon daha gelişmiştir. Bu yöntemlerde sentetik büyük molekül ağırlıklı glike polilizin standartları kullanılmaya başlanmıştır. Polilizinin reaksiyon kinetiği fizyolojik fruktozamine çok benzemektedir (45).

Aynı koşullarda serumda fruktozamin dışındaki bazı maddeler de (örneğin ürik asid) NBT'yi redükleyebilmektedir. Bu nonspesifik redüksiyon hatasının çeşitli yöntemlerle düzeltilmesi veya önlenmesi, serum fruktozamin konsantrasyonunun protein yapısındaki nonenzimatik glikozile aminoasidlerin konsantrasyonunu doğru bir şekilde yansıtmasını sağlamaktadır. Johnson tarafından tanımlanan fruktozamin testinin, klinik yararlılığını önleyen ürik asid interferansı gibi sorunlardan da (hiperürisemi tip 2 DM'li popülasyonda sık görülür) bu şekilde kaçınılmaktadır.

İkinci jenerasyon yöntemler, ürik asid interferansını önlemek için ürat oksidaz veya matematiksel düzeltme; lipemiden kaynaklanan interferansı ve diformazan çözünme problemini önlemek için deterjanlar içerir. Bununla beraber sarılık, hemoliz, böbrek yetmezlikli hastaların serumundaki nonspesifik redükleyiciler yanlış sonuçlara sebep olur. Ayrıca serumda mevcut askorbik asid, glutatyon gibi redükleyici maddeler, nadiren de olsa yöntemi önemli derecede interfere ederler (43, 44).

### **2.3.4.Klinik Yararlılığı**

#### **2.2.4.1.Tanı ve Tarama Testi Olarak**

ABD’de 17 milyon DM’li olduğu tahmin edilmektedir. Ancak bunun 11 milyonu tanı almıştır, henüz 5,9 milyonuna tanı konmamış olduğu tahmin edilmektedir (46). Asemptomatik ve henüz tanı konmamış DM’lilerin toplumda sık bulunması ve potansiyel komplikasyonların varlığı sebebiyle, basit testlerle toplum taramaları yapılarak erken tanı ve tedavinin sağlanması DM komplikasyonlarını önlemede önem taşır (12, 13).

DM tanısı koymak, bireysel yükü ağır olması ve ömür boyu sürmesi sebebiyle hastaların hayatını etkileyen önemli bir karardır. Böyle bir tanı, hiperglisemi ve buna bağlı belirtilerin varlığıyla birlikte, spesifik diabet komplikasyonların gelişme riskindeki artışı da içermektedir. Bu sebeple DM tanısında, yetkili kurumlarca hazırlanan DM tanı kriterleri tavsiyeleri periyodik olarak yayınlanmaktadır.

ADA’nın tavsiye ettiği son tanı kriterleri kan şekeri düzeyleri (açlık ve random kan şekeri ölçümleri) ve uyaranlara kan şekeri cevabının (OGTT) göstergelerini araştırmayı kapsar (47). Bu testler, testin yapıldığı andaki metabolik durumu yansıtırlar, uzun dönemli metabolik durum hakkında fikir vermezler. Bu sebeple yanıltıcı olabileceğinden kesin tanı koyabilmek için zaten tanı kriterlerinde testin tekrarları önerilmektedir.

Tanı testi olarak glike protein ölçümlerinin değeri konusunda karşılaştırmalı olarak yapılmış çeşitli çalışmalar vardır ve bu konuda birbirinden farklı sonuçlar mevcuttur. Ancak tanı testi olarak klasik testlere yardımcı olarak glikasyona uğramış proteinlerin kullanımı önerilmemiştir; bu testler daha çok glisemi izleminde yerlerini almışlardır (50, 51, 52, 53, 54, 55).

#### **2.2.4.2.İzlem Testi Olarak**

Kronik bir hastalık olan DM uzun dönemli seyrinde çeşitli komplikasyonlara sebep olmaktadır. DM komplikasyonları kan glukoz kontrolünün bozukluğuna bağlı ortaya çıkan hiperglisemi ile bağlantılıdır. Özellikle kan glukoz düzeyleri kontrolsüz kalan DM’lilerde ölüm ve komplikasyon gelişme riski daha fazladır. DCCT T1DM’lilerde, UKDPS T2DM’lilerde uygun ajanlarla yoğun tedavi ile kan glukoz değerlerinin belirli aralıkta tutulmasının %40-75 oranında uzun dönemli diabetik komplikasyonların gelişmesini geciktirdiğini ortaya çıkarmıştır (12, 13). Bu sebeple DM’lilerde kan glukoz düzeyinin izlemi önem taşımaktadır.



Kan glukoz seviyelerinin ölçümü, DM'nin günlük takibinde kullanılan oldukça yararlı araçlardır. Fakat bu testler hastaya ve hekime anlık kan glukoz seviyelerini gösterirler. Nonenzimatik glikasyona uğramış proteinler; özellikle hemoglobin ve serum proteinleri, glisemi izlemine yeni bir boyut getirmişlerdir. Bir kez ölçüm ile haftalar veya aylar içindeki ortalama glisemi kantite edilebilir; bu yönüyle günlük testleri tamamlayıcıdır (50, 51, 52, 53, 54, 55).

HbA<sub>1c</sub> kan glukoz kontrolünün 2-3 aylık, fruktozamin ise 2-3 haftalık göstergesi olarak klinik kimya rutininde yararlı testlerdir. ADA ve AACCE, HbA<sub>1c</sub> ölçümlerinin glisemik kontrolün izlenmesinde kullanılmasını tavsiye etmektedir (47, 48).

Fruktozamin orijinal ölçüm yönteminin kullanıldığı ilk çalışmalardan beri geçen 10-15 yıllık sürede, tanımlanan artefaktların düzeltilmesi için ölçüm yönteminin modifikasyonuna yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (ürrikaz veya matematiksel düzeltme ile ürik asid interferansının engellenmesi, deterjan eklenmesi ile çözünürlüğün artırılması ve glikozillenmiş lizinin kalibratör olarak kullanılması gibi). Fakat ölçüm yönteminin glikozile serum proteinlerine özgül olmaması sebebiyle klinik kullanımına yönelik kuşkular vardır. Bu süreç içinde gelişen genel kanı fruktozamin ölçümünün glisemi takibinde HbA<sub>1c</sub> ile birlikte kullanılmasıdır.

Fruktozamin ölçümü, ölçüm yöntemi bir yana bırakılırsa, HbA<sub>1c</sub> ile eşit düşünülmemelidir; çünkü daha kısa aralıklarla glisemik kontrolü gösterir. Bu sebeple fruktozamin ölçümü ile HbA<sub>1c</sub> ile yılda 3-4 kez elde edilen aynı bilgiyi yılda 12 kez sağlar (56, 57).

Fruktozamin klinik kullanımına yönelik daha sağlıklı değerlendirmeler yapmak için yeni araştırmalar yapmak gereklidir. Henüz HbA<sub>1c</sub> gibi, fruktozamin ölçümlerinin DM'nin kronik komplikasyonlarının gelişmesiyle ilişkisi dahi henüz gösterilememiştir (47).

#### **2.2.4.3.Kullanımının Avantajlı Olduğu Durumlar**

Fruktozamin, kan glukoz kontrolündeki değişiklikleri daha sensitif gösteren bir testtir. Böylece DM'li hastaların tedavisinde optimal dozun belirlenmesini kolaylaştırır. Ayrıca standardize edilmiş, laboratuvar sonuçlarının klinikle belirti - bulgularla ve diğer laboratuvarlardan elde edilen sonuçlarla korele bir testtir.

HA<sub>1c</sub> ölçümlerinin etkilendiği bazı klinik durumlarda fruktozamin ölçümü, glisemi kontrolünün takibinde tercih edilir (Tablo: 12).

Tablo 12: HbA<sub>1c</sub> Ölçümlerinin Etkilendiği Bazı Durumlar

Düşük HbA <sub>1c</sub>	Yüksek HbA <sub>1c</sub>
<p>Kan kaybına sebep olan durumlar</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Demir eksikliği anemisi</li><li>• Kan verme</li><li>• Yakın zamanda kan transfüzyonu</li><li>• Yakın zamanda çocuk doğurma</li><li>• Hematemez, melana, menoraji</li></ul> <p>Eritrosit ömrünü azaltan durumlar</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Otoimmün hemolitik anemiler</li><li>• Konjenital hemolitik anemiler (herediter sferositoz, eliptositoz)</li></ul> <p>Hemoglobinopatiler</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• HbS ve HbC</li><li>• Beta talasemi trait</li><li>• HbF (immün yöntemlerde)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• HbF (bazı HPLC yöntemleri)</li><li>• Kronik böbrek yetmezliği (karbamilasyon)</li></ul>

Özellikle daha kısa aralıklarla izlem gerektiren durumlarda HbA<sub>1c</sub>'ye göre avantajlıdır (Tablo 13).

Tablo 13: Kısa Aralıklarla İzlem Gerektiren Durumlardan Bazıları

<ul style="list-style-type: none"><li>• Tedavi değişikliklerinin izleminde</li><li>• Ameliyat önce-sonrası izleminde</li><li>• Glukokortikoid tedavi izleminde</li><li>• Gestasyonel diabette</li></ul>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Diğer bir avantajı, klinik laboratuvar pratiğinde basit ve ucuz bir yöntem olmasıdır. Günümüzde kullanılan yöntem, fruktozaminin NBT'yi redüklemesine bağlı, diformazan bileşiğinin oluşumuna dayanır. Kolaylıkla standart kimya analizörlerine otomatize edilebilir.

Günümüzde HbA<sub>1c</sub> ölçümünde ise uygulaması ve standardizasyonu daha zor, pahalı olan immunokimyasal ve kromatografik yöntemler kullanılmaktadır.

#### 2.3.4.4. Kullanımının Dezavantajlı Olduğu Durumlar

Fruktozamin düzeyinin ölçümü serumdaki protein konsantrasyonunu ve yarı ömrünü etkileyen çeşitli durumlarda yanıltıcıdır (Tablo 14). Bu gibi durumlara “fruktozamin/albumin” oranı yol gösterici olabilir.

Tablo 14: Fruktozamin Ölçümlerinin Etkilendiği Bazı Durumlar

Düşük fruktozamin	Yüksek fruktozamin
Protein sentezinin azaldığı durumlar <ul style="list-style-type: none"><li>• Analbuminemi-disalbuminemi</li><li>• Karaciğer yetmezliği</li></ul>	Protein sentezi artışına sebep olan durumlar <ul style="list-style-type: none"><li>• Disglobulinemiler (multipl myelom, kollagen doku hastalıkları)</li></ul>
Protein kaybına sebep olan durumlar <ul style="list-style-type: none"><li>• Nefrotik sendrom</li><li>• Malnutrisyon</li><li>• Malabsorbsiyon</li></ul>	
Protein turnover arttığı durumlar <ul style="list-style-type: none"><li>• Hipertiroidi</li><li>• Travmalar ve cerrahi müdahaleler</li><li>• Enfeksiyonlar</li><li>• Maligniteler</li></ul>	Protein turnoverinin azaldığı durumlar <ul style="list-style-type: none"><li>• Hipotiroidi</li></ul>

## 2.4. DİABETES MELLİTUS İZLEMİNDE YENİ LABORATUVAR TESTLERİ

DM izleminde yeni laboratuvar testleri gündemdedir. Bunlarda bazıları glikoalbumin ve 1,5-anhdroglusitol'dur.

### 2.4.1. Glikoalbumin

Serumdaki proteinlerin yaklaşık %80'ini albumin oluşturduğundan, son zamanlarda glike serum albumini (glikoalbumin) ölçümü gündeme gelmiştir. Serum glikoalbumin ölçümü ile, fruktozamin ölçümünden kaynaklanan analitik nonspesifiklik ve fotometrik interferans

gibi iki önemli sorundan kaçınılmış da olacaktır. Bununla beraber fruktozamin standardizasyonunda yaşanan zorluğa benzer stabil ve tekrarlanabilir glikoalbumin standartları hazırlamak gereklidir. Glikoalbumin ölçümlerinde, spesifik antiglikoalbumin antikörleri veya antikor ve fenilboronat konjugatları yakalayan antialbumin içeren sandviç yöntemleri kullanılmaktadır (58, 59, 60).

#### 2.4.2. 1,5-Anhidroglusitol (1,5-AG)

Günün birinde DM hastalığının tedavisinde, komplikasyonları önlemede glikasyonu inhibe edecek ilaçlar bulunduğu; HbA<sub>1c</sub> ve fruktozamin gibi glikasyon ürünlerinin ölçümüne dayalı testler, bu ilaçları kullanan hastaların ortalama glukoz konsantrasyonunun göstermede yetersiz kalacaklardır. DM izleminde kullanılan nonenzimatik glikasyona uğramış proteinlerden başka yeni ve yararlı alternatif bir test olan 1,5-AG ölçümü, bu durumlarda yararlı olabilir. Henüz rutine girmemiş ve ADA kriterleri arasında yer almayan bu test, bazı otörlere göre glisemik değişikliklere, HbA<sub>1c</sub> ve fruktozaminden daha sensitiftir (47).

1,5-AG, glukozun piranoz şeklidir (poliol); yapısal olarak çok benzerdir. Yapılarındaki tek fark, 1,5-AG yapısında 1-hidroksil grubunun olmamasıdır. Zaten daha az kullanılan diğer ismi de “1-deoksiglukoz”dur. İnsan dokularının büyük bir kısmında bulunur. Asıl kaynağı diyetdir, aynı zamanda endojen olarak da sentezlenir. Metabolik olarak inert ve yarı ömrü uzundur. Serumdaki konsantrasyonu sağlıklı bireylerde dar sınırlar içinde değişir (20µg/mL=130µM/L). Diurnal ritm göstermez, yaş, cinsiyet, vücut ağırlığından, glukoz alımından etkilenmez. Metabolize edilmeden böbreklerden atılır, glukozla yarışarak tubuler reabsorpsiyona uğrar. Hiperglisemide serumda düşer, idrar atılımı artar (61, 62).

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### 3.YÖNTEM VE GEREÇLER

#### 3.1.ARAÇ VE GEREÇLER

##### 3.1.1.Cihazlar

Tablo 15: Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazların Listesi

Cihaz Adı	Marka	Model	Üretici Firma
Otoanalizör	Hitachi	912 BM	Boehringer Mannheim Co, Mannheim, Germany
Otoanalizör	Hitachi	747-200	Boehringer Mannheim Co, Mannheim, Germany
Otoanalizör	Cobas	İntegra 400 plus	Roche Diagnostics, USA
Otoanalizör	İmmulyte	2000	Diagnostic Products Corporation, United Kingdom
Kan sayımı cihazı	Coulter	LH 750	Beckman Coulter, USA
Spektrofotometre	Jasco	V 550 UV/VIS	Jasco Co
Spektrofotometre	Schimadzu	CL-750	Schimadzu Co, Kyoto, Japan
pHmetre	Orion	710A	Orion Co
Hassas Terazı	Libror	AEG-220	Schimadzu Co, Japan
Manyetik karıştırıcı	RH basic		IKA Labortechnik
Santrifüj	Heraus	2.0 RS	Heraus Inc
Derin dondurucu (-70°C)	Sepatech	-	Schimadzu Co
Otomatik Pipetler (100 µL, 200µL, 1000 µL)	Gilson	Pipetman	Gilson Inc
Tansiyon aleti	Erka	-	Erka
İmpedansometre	Omron	BF 302	Omron Healthcare Europe
Tartı aleti	Krups	-	Krups, PRC

### 3.1.2. Kimyasal Maddeler

Tablo 16: Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddelerin Listesi

Madde Adı	Kimyasal Formülü	Firma	Katalog No
Sodium carbonate anhydrous, extrapure	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Riedel-de-Haen	13418
Sodium hydrogen carbonate powder, extrapure	NaHCO <sub>3</sub>	Riedel-de-Haen	13433
Triton X-100	-	AppliChem	A1388,2500
1,5-dihydroxyaceton dimer %97	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Aldrich	D10,720-4
Nitro blue tetrazolium	C <sub>40</sub> H <sub>30</sub> C <sub>12</sub> N <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	AppliChem	A1243,0005

### 3.1.3. Kitler

Tablo 17: Tez Çalışmasında Kullanılan Kitlerin Listesi

Kit Adı	Yöntem	Firma
Glukoz	Enzimatik kolorimetrik	Roche
BUN	Kinetik UV yöntem	Roche
Kreatinin	Kolorimetrik	Roche
Ürik asid	Enzimatik kolorimetrik	Roche
AST	Kinetik UV yöntem	Roche
ALT	Kinetik UV yöntem	Roche
Trigliserid	Enzimatik kolorimetrik	Roche
Total kolesterol	Enzimatik kolorimetrik	Roche
HDL-kolesterol	Enzimatik kolorimetrik	Roche
LDL-kolesterol	Enzimatik kolorimetrik	Roche
T.protein	Kolorimetrik	Roche
Albumin	Kolorimetrik	Roche
Apo A <sub>1</sub>	İmmunotürbidimetrik	Roche
Apo B <sub>100</sub>	İmmunotürbidimetrik	Roche
HbA1c	Türbidimetrik inhibisyon immunoassay	Roche
T3	Kemiluminisans	DPC
T4	Kemiluminisans	DPC
TSH	Kemiluminisans	DPC
Mikroalbumin	İmmunotürbidimetrik	Roche

### 3.1.4.Gereçler

Tablo 18: Tez Çalışmasında Kullanılan Gereçlerin Listesi

Plastik tüpler (2mL'lik)
Eppendorff tüpleri
Pipet uçları (sarı ve mavi)
Parafilm
Latex eldiven
Mezur
Duvar metrajı
Kağıt havlu
Cam malzemeler (Pastör pipeti, beherglas, balon joje, dereceli silindirleri)

## 3.2.OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

### 3.2.1. Olguların Seçimi

Hasta grubu olarak, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniği'ne 01.08.2002 ile 01.05.2003 tarihleri arasında 9 ay süre içinde başvuran, ADA kriterlerine göre T2DM tanısı almış yaş ortalamaları  $60 \pm 20$  olan 227 kadın, 126 erkek; toplam 353 birey seçildi. Kontrol grubu olarak da; aynı tarihler arasında DEÜTF Endokrinoloji Polikliniği'ne başvuran hastalar, Narlıdere Dinlenme ve Bakım Evi sakinleri, DEÜTF Merkez Laboratuvarı ve Biyokimya AD çalışanları ve akrabalarından, ADA kriterlerine göre DM olmayan yaş ortalamaları  $61 \pm 11$  olan 84 kadın, 62 erkek; toplam 146 birey seçildi. Etik Kurul Onayı alındıktan sonra, çalışmaya alınacak tüm olgular çalışmadan yazılı olarak bilgilendirilerek imza ile onayları alındı.

Her olgu için alınan kimlik, klinik ve laboratuvar bilgileri "hasta bilgi formu"na işlendi (Bkz Ek1).

### 3.2.2.Örneklerin Toplanması ve Saklanması

T2DM'li hasta ve kontrol grubu; 8-10 saatlik gece açlığından sonra sabah saatlerinde çağrılarak, periferik venöz kan örnekleri "vacutainer" düz kan tüplerine alındı. Tüpler 2000 g'de 10dk santrifüj edildikten sonra serumları elde edildi. Bu serumlar eppendorff tüplerinde -60C°'de, daha sonra çalışılmak üzere saklandı.

### 3.3.FİZİKSEL BULGULAR

Olgulardan Tablo19’da yeralan ölçümler alınarak kaydedildi.

Tablo 19: Olgularda Yapılan Ölçümler

Arteriyel tansiyon (mmHg)
Boy (m)
Kilo (kg)
Bel çevresi (cm)
Kalça çevresi (cm)
Cilt kalınlığı (mm)
İmpedans analizi (% , kg)

#### 3.3.1. Arteriyel Tansiyon Ölçümü

Arteriyel tansiyon yükselmesi, aterosklerotik süreçte oluşan bir durumdur. DM’lilerde uzun dönemli seyirinde makrovasküler komplikasyon gelişimine bağlı hipertansiyon sıklığıdır. Özellikle sistolik 140mmHg, diastolik 90mmHg olması kardiyovasküler hastalıklar için risk kabul edilmektedir.

Ölçümler, anamnez sırasında 10dk dinlendikten sonra, olgu muayene masasında otururken elde edildi. Endokrinoloji polikliniğinde rutin muayenede kullanılan duvar cıvalı manometreleri kullanılarak arteriyel tansiyon (mmHg) ölçüldü.

#### 3.3.2.Vücut Ağırlığı ve Boy Ölçümü

Vücut kütle indeksi şişmanlığı değerlendirmede önemli parametredir. “Body Mass Index” inin (BMI) 27 kg/m<sup>2</sup> üzerinde olması, şişmanlık kriteri olarak kabul edilmektedir.

Ölçümler oda gıysileri içinde ve ayakta elde edildi. Endokrinoloji polikliniğinde rutin muayenede kullanılan duvar metrajı ve tartı aleti kullanılarak, olguların vücut ağırlığı (kg) ve boyu (m) ölçüldü. BMI, ağırlık (kg)/ boy<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>) formülü ile elde edildi

#### 3.3.3.Bel ve Kalça Çevresi Ölçümü

Vücut yağ dağılımını belirlemede bel/ kalça çevresi oranı (waist to hip ratio, WHR) önemlidir. WHR; abdominal şişmanlık tanısında ve üst vücut şişmanlığını, alt vücut şişmanlığından ayırt etmede değerlidir. Abdominal şişmanlık, özellikle kardiyovasküler risk



faktörleri ile yakın bir ilişki gösterir. WHR 0.80'den küçük hastalara periferik obez (POG), 0.80'e eşit ve büyük hastalar santral obez (SOG) olarak değerlendirilir.

Ölçümler oda giysileri içinde ve ayakta elde edildi. Endokrinoloji polikliniğindeki mezur kullanılarak, olguların bel ve kalça çevresi (cm) ölçüldü. Bel çevresi, "arcus costarum" ile "prosesus spina ilaca anterior superior" arasındaki en dar çap, kalça çevresi ise arkada "musculus gluteus maximus" lar ve önde "symphysis pubis" üzerinden geçen en geniş çap olarak kabul edildi. WHR, bel çevresi (cm)/ kalça çevresi (cm) formülü ile elde edildi.

### 3.3.4.Ciltaltı Yağ Dokusu Kalınlığı Ölçümü

Vücut deri katlantılarının ölçümü, "musculus biceps brachii", "musculus triceps brachii", "musculus suprascapularis" gibi vücudun çeşitli bölgelerinden yapılmaktadır. Cilt altındaki yağ dokusunun kalınlığının ölçümü, vücut yağlılığının bir göstergesidir.

Cilt altı yağ dokusu kalınlığı ölçümü, olguların sağ kolu çıplak, dirsek eklemi bükülüp, "musculus triceps brachii" in ortasından kasın iki katmanı ele gelecek şekilde elle tutulduktan sonra yapıldı (mm).

### 3.3.5.İmpedans Ölçümü

Biyoelektrik impedans ölçümü; elektriğin farklı yoğunluktaki dokularca farklı iletimine dayanan bir yöntemdir. Hata payının görüntüleme yöntemlerine (NMR gibi) göre yüksek olmasına rağmen; taşınabilirliği, düşük maliyet gerektirmesi ve kolay ölçüm yapılabilmesi sebebiyle yaygınlaşmıştır.

Üretilen cihaza göre değişmekle birlikte; mikro şiddette oluşan bir elektrik akımının seyri sırasında, dokuların gösterdiği direncin (impedans) elektrotlarca algılandıktan sonra mikroişlemciye aktarılıp, belleğinde yüklü katsayılar yardımıyla ekstrasellüler vücut sıvısı, yağsız vücut kitlesi ve yağ kitlesi hesaplanır.

Biyoelektrik impedans ölçümleri, Biostat Inc firması tarafından üretilen cihazla yapıldı. Cihaza hastanın vücut ağırlığı, boy, cinsiyet, yaş parametreleri girildikten sonra, hasta ayakta ve hiçbir yere dokunmuyorken, cihazın elektrotlarını elle tutarak, kollarını karşıya yere paralel şekilde uzattıktan sonra ölçüm başlatma düğmesine basımını takiben 10sn içinde ölçüm sonucu alındı. Olguların vücut yağ kitlesi miktarı, yüzde (%) ve kilogram (kg) olarak elde edildi.

### 3.4.BİYOKİMYASAL ANALİZLER

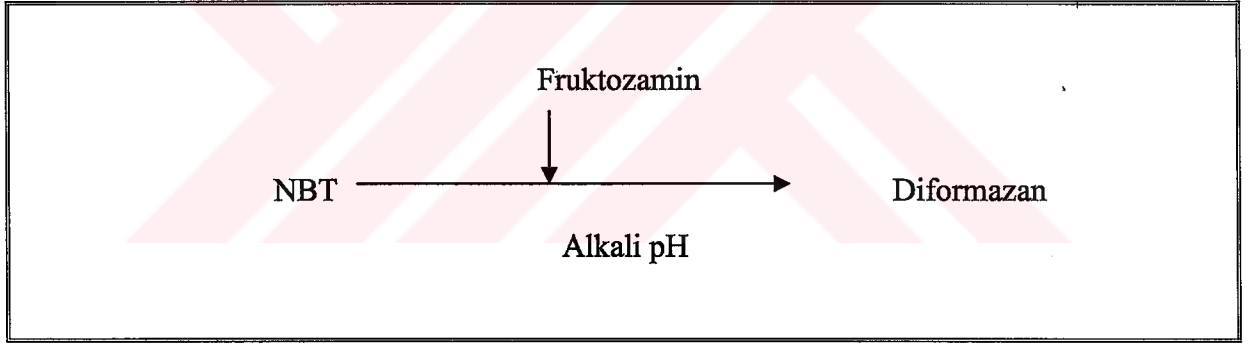
Endokrinoloji polikliniğinde T2DM tanısıyla izlenen olguların rutin takiplerinde istenen biyokimyasal analizlerin sonuçları alındığı için tüm olguların laboratuvar analizleri tek çalışmada yapılmamıştır. Bu metodolojik eksikliğine rağmen çalışma; hasta, personel, hastane ve kuruma ek mali külfet getirmemiştir. Saklanan örneklerden tek çalışmada sadece fruktozamin parametresi analiz edildi.

#### 3.4.1. Fruktozamin Analizi

##### 3.4.1.1.Yöntem Prensibi

Phillipou G.'nin yöntemini, modifiye ederek geliştiren Taş S.'nin yöntemi kullanıldı (44).

Yöntem nitro blue tetrazolium'un (NBT) fruktozamin tarafından redüklenmesine dayanır. Oluşan diformazan bileşiğinin 525nm'de 10dk ve 15dk arası ölçülen  $\Delta A$  (delta absorbansı) fruktozamin konsantrasyonu ile koreledir. Sonuçlar  $\mu\text{mol/L}$ 'dir.



Şekil 8: Fruktozamin Ölçümünde NBT Reaksiyonu

Reaksiyon glike proteinlere spesifik olmadığı için, serumdaki nonspesifik redükleyici maddeler NBT redüklemesine katkıda bulunur. Bu özellikle kronik böbrek yetersizliği gibi çeşitli kliniğe sahip hasta serumlarında yapılan ölçümlerde önemli sorun oluşturur. Bu sebeple ilk 10dk bu nonspesifik maddelerin redükleyici etkileri için beklenen bir latent periyoddur. Bundan sonra ise yapılan ölçümde redükleme etkisi sadece ürik asid ve fruktozamine bağlıdır. Ürik asid interferansı, ürik asid elimine edici yöntemlerle (ürikaz eklenmesi, dializ edilmesi) veya matematiksel olarak düzeltilir.

Tablo 20: Fruktozamin Ölçümünde Ürik Asid İnterferans Etkisinin Çıkarılması

$\text{Fruktozamin} = \text{Ölçülen fruktozamin } (\mu\text{mol/L}) - [\text{ölçülen ürik asid } (\mu\text{mol/L}) \times 0,819^*]$ <p>*Ürik asid interferans faktörü=0,819</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### 3.4.1.2.Reaktifler

Tablo 21: Fruktozamin Ölçüm Yönteminde Kullanılan Reaktifler

Reaktif 1	%2,7 triton X-100 içeren 0,1M Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> / NaHCO <sub>3</sub> tamponu (pH=10,3)
Reaktif 2	0,5mM NBT [0,1M Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> / NaHCO <sub>3</sub> tamponda (pH=10,3) çözülmüş]

NBT ışık etkisi ile redüklenebildiği için alüminyum folyo ile sarılarak korundu. Her iki reaktif, kullanım anına kadar ağzı kapalı şekilde +4 °C’de cam malzeme içinde saklandı.

### 3.4.1.3.Standart ve Kontrol Materyelleri

Standart olarak dihidroksiaseton (DHA) kullanıldı. 1mM stok solusyondan 0,3mM ve 0,6mM dilüsyonlar yapıldı. DHA ışıktan, havadan ve sıcaklıktan kolaylıkla oksitlenebildiği için, alüminyum folyoda eppendorff tüpleri içinde porsiyonlara ayrılarak -60°C’de kullanılıncaya kadar ağzı kapalı şekilde saklandı.

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında rutin biyokimyasal analizleri yapılan kişilerin serumlarından glukoz seviyeleri 70-110mg/dL (normoglisemik=sağlıklı) ve 110mg/dL’den yüksek (hiperglisemik=diabetik) olan iki serum havuzu hazırlandı. Yeterli büyüklükte populasyondan hazırlanan bu serum havuzlarının biyokimyasal parametreleri incelenip uygun olduğu saptandıktan sonra eppendorff tüpleri içinde porsiyonlara ayrılarak -60°C’de kullanılıncaya kadar saklandı (Tablo 22). Bu serum havuzları daha sonra kalite kontrol ve analitik performans çalışmaları için kullanıldı.

Tablo 22: Serum Havuzlarının Bileşimi

	Nomoglisemik serum havuzu	Hiperglisemik serum havuzu
Gukoz (mg/dL)	94	123
BUN (mg/dL)	18	17
Kreatinin (mg/dL)	1,2	1,2
Ürik asid (mg/dL)	4,7	5,1
Trigliserit (mg/dL)	105	135
T.kolesterol (mg/dL)	204	198
T.bilirubin (mg/dL)	0,6	0,7
D.bilirubin (mg/dL)	0,3	0,3
T.protein (g/dL)	6,8	7,0
Albumin (g/dL)	4,5	4,6
Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )	262	320

#### 3.4.1.4.Manuel ve Otomatize Yöntem Prosedürleri

Manuel yöntem ile Jasco V550 UV/VIS spektrofotometrede mikroküvetler kullanılarak ölçümler yapıldı.

Tablo 23 : Fruktozamin Ölçümü Manuel Yöntem Prosedürü

Dalga boyu	525nm
Okuma zamanları	10dk ve 15dk
Örnek hacmi	50 $\mu\text{L}$
R1 hacmi	500 $\mu\text{L}$
R2 hacmi	500 $\mu\text{L}$

Otomatize yöntem prosedürü Hitachi 912BM otoanalizörüne programı girilerek otomatize edildi.

Tablo 24 : Fruktozamin Ölçümü Otomatize Yöntem Prosedürü

Analyzer cycle time	10sec
Assay	2 point rate
Time	15
Point	34 / 49
Wavelength (Primary /secondary)	505 / 800
Sample volume	15µL
Reagent R1 volume	150µL
Reagent R2 volume	150µL
Absorbans limit / Dec-Inc	-32 000 – 32000 / Increase
Prozone limit / Dec-Inc	-32 000 – 32000 / Upper

#### 3.4.1.4. Optimizasyon Çalışmaları

Fruktozamin ölçümünde, oluşan diformazanın noniyonik deterjan eklenerek optimal çözünürlüğünün sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla noniyonik deterjan olan triton X-100 kullanıldı. Çeşitli konsantrasyonda triton X-100 içeren reaktif 1 ile reaksiyon eğrisi ve ölçüm değerleri test edildi.

#### 3.4.1.5. Analitik Performans Çalışmaları

##### *Tekrarlanabilirlik (Precision):*

Normoglisemik ve hiperglisemik serum havuzları ile gün içi tekrarlanabilirlik için 10 örnek, günler arası tekrarlanabilirlik için 10 gün süreyle 10 örneğin fruktozamin düzeyleri analiz edildi.

##### *Doğruluk (Accuracy):*

Ticari olarak satılan iki kontrol materyeli elde edildikten sonra (Roche ve Sigma), yapılan deneylerde her iki materyelin de kullanılan yönteme uygun olmadığı saptandı. Doğruluğu test etmek amacıyla hazırlanan normoglisemik ve hiperglisemik serum havuzları kullanıldı.

*Geri kazanım (Recovery):*

Elde uygun fruktozamin içeren materyel olmadığı için geri kazanım deneyleri yapılamamıştır.

### **3.4.2.Diğer Analizler**

T2DM tanısıyla izlenen olgulardan rutin takiplerinde istenen biyokimyasal analizlerin sonuçları alındığı için tüm olguların laboratuvar analizleri tek çalışmada yapılamadı.

Biyokimyasal analizler (glukoz, BUN, kreatinin, AST, ALT, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein, albumin) Hitachi 747-200 otoanalizörü ile, spesifik protein analizleri (apo A<sub>1</sub>, apo B<sub>100</sub>, HbA<sub>1c</sub>) İntegra 400 otoanalizörüyle; endokrinolojik analizler (sT<sub>3</sub>, sT<sub>4</sub>, TSH) İmmulyte 2000 otoanalizörü ile; hematolojik analizler (kan sayımı) Coulter LH 750 kan sayımı cihazıyla yapılmıştır. Kullanılan kitler, yöntem ve firmaları Tablo 16'da yer almaktadır.

## **3.5.İSTATİSTİKSEL ANALİZLER**

### **3.5.1.Verilerin Kaydedilmesi**

“Hasta bilgi formu”nda yer alan tüm bilgiler ilk önce “Microsoft Excel 2002” ticari programı kullanılarak kaydedildi (Bkz Ek1).

### **3.5.2.Veri Alanları Tanımı ve Verilerin Kantitatif Hale Dönüştürülmesi**

İstatistiksel değerlendirme öncesinde; “hasta bilgi formu”ndan elde edilen tüm verilerin düzenlenmesi yapıldı. Veriler kantitatif hale getirildi; uygun olmayanlar veriler ise yarı kantitatif hale getirildi.

### **3.5.2.Verilerin Analizi , Tablo ve Grafiklerle Gösterilmesi**

İstatistiksel değerlendirmeler, tablo hazırlama ve grafik çizimi için “SPSS for Windows 10.5” ticari istatistik programı kullanılarak yapıldı.

İstatistiksel değerlendirmelerde; grup ortalamalarını karşılaştırmak için “bağımsız gruplarda t testi“ (Student’s t testi) ve “Mann Whitney U testi” , bağıntı analizi için “Pearson korelasyonu”, oransal farklılıkları karşılaştırmak için “ki kare testi” ve çoklu grupları karşılaştırmak için “Kruskal Wallis Varyans Analizi” ve “ANOVA” analizleri kullanıldı. Varyans analizinde farklar anlamlı bulunduğu durumlarda; varyans homojenliği olduğunda

Bonferroni testi kullanılırken, diğer durumlar için Dunnet C testi uygulanmıştır. Tüm hipotez kontrollerinde önem seviyesi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

Sonuçların tablosal gösterilmesinde “tanımlayıcı” ve “çapraz” tablolar; grafisel gösterilmesinde “bar”, “pie”, “scatter”, “box-plot” grafikleri kullanıldı. Grafiklerde “outlier” ve “extreme” değerler gösterilmedi.

### 3.6.KISITLILIKLAR

Bu tez araştırması sırasında ideal koşullarda yapılması gerektiği düşünülen veya yapılması planlanıp çeşitli sebeplerle vazgeçilmek zorunda kalınan durumlar olmuştur. Bu durumlar araştırmanın “en uygun” görülen koşullarından sapmasına sebep olmuştur. Bunlardan bazıları araştırmayı yapanların kontrolü ve etki alanında olduğu gibi; bazen de fayda- maliyet açısından pratik olmadığı için gerçekleştirilememiştir. Bu sebeple araştırmanın ve ortaya çıkan bulguları, bu kısıtlılıklar gözönüne alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

#### *1.Tez Konusu Seçim Kısıtlılığı:*

DM'nin moleküler biyolojisi ve genetiğine yönelik bir araştırmanın yapılmasında, laboratuvar olanaklarının kısıtlılığı ve malzeme temininde sorunlar olacağı öngörülerek, rutin laboratuvar uygulamasına yönelik bir konu tercih edilmiştir. Bu tür bir çalışmanın laboratuvar olanaklarının bulunduğu bilim dallarındaki araştırmacılarla ortaklaşa ve finansal destekli olarak yapılması gerekmektedir.

#### *2.Finans Kısıtlılığı:*

Tez araştırmasının finansal destek başvurusunun olmaması, özellikle fruktozamin analiziyle ilgili kimyasal maddelerin temininde ve örneklerin analizinde çalışma için gerekli parametrelerin seçiminde, seçilen parametrelerin her olguda çalışılmamasına sebep olmuştur. Olgu gruplarının verilerinin eksikliği de, istatistiki analizde bu verilerin kullanılamamasına sebep olmuştur. Ayrıca Etik Kurul, tez araştırmasının finansal desteğinin olmasını ve/ veya hasta, kurum, hastaneye ek maliyet getirilmemesi koşulunu koymasına sebebiyle, etik kurul onayının güç çıkmasına sebep olmuştur.

### *3.İşgücü Kısıtlılığı:*

Tez araştırma sırasında poliklinikte olgularla konuşma ve ölçüm yapma, örneklerin toplanması, saklanması ve çalışılması sırasında yardım alınmaması olguların geç toplanmasına ve olgulara yeterli vakit ayrılmamasına sebep olmuştur.

### *4.Poliklinik Koşullarının Kısıtlılığı:*

Endokrinoloji polikliniğinin hasta kapasitesinin yüksekliği sebebiyle olgu varlığının bildirilmesinin unutulması ve muayene yapacak ek oda olmayışı, olguların daha geç toplanmasına ve hastalarla görüşme zorluğuna sebep olmuştur.

### *5.Teknik Durum Kısıtlılığı:*

Diformazan çözünürlüğünü artırmak için kullanılan noniyonik deterjan olarak, "Nonidet-40" yerine, temin kolaylığı ve ucuzluğu sebebiyle "Triton X-100" tercih edilmek zorunda kalınmıştır.

Polizin standartın pahalı oluşu ve temininde güçlük sebebiyle dihidroksiaseton kullanılmıştır.

Tez araştırmasında kullanılan fruktozamin ölçüm yöntemini, maddi kısıtlılıklar sebebiyle piyasadaki ticari kitlerle karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

Analiz yöntemine uygun (15dk da absorban okumaya ve program girmeye) otoanalizörün bulunmasında zorluk; uygun analizörün ihale değişikliğine bağlı mekan değişiklikleri, testin otomatize edilmesini güçleştirmiştir. Ayrıca analizörün acilde, nöbette ve rutin analizlerde kullanılması da, testin otomasyonu ile ilgili deneylerin yapılmasını güçleştirmiştir.

### *6.Olgu Seçim Kısıtlılığı:*

T2DM hasta grubuna uygun yaş ve cinsiyette, DM olmayan bireylerin polikliniğe başvurmaması kontrol olgularının toplanmasında zorluk yaratmıştır. Narlidere Dinlenme Merkezi sakinlerinin, laboratuvar çalışanları ve akrabalarının eklenmesi ile olgu sayısı tamamlanabilmiştir.

### *7.Olgulardan Anamnez ve Fiziksel Ölçülerin Alım Kısıtlılığı:*

Olgularla görüşme ve muayene sırasında "hasta bilgi formu"nda ilgili bilgiler alınırken,



- Olguların senet, çek, vekaletname gibi belgelerin imzalayabilme riski sebebiyle yazılı onaydan çekinme ve tez araştırmasının süregelen olabileceği düşüncesiyle sık aralıklarla kontrole gelinmesi gerektiğinin düşünme sebebiyle araştırmaya katılmama veya çıkma istekleri
- Olguların sigara ve alkol alışkanlıkları, fiziksel aktivite, diyet, kullandıkları ilaç ve bunlara uyumu konusunda verdikleri bilgilerin net olmadığı veya azarlanacağı korkusuyla eksik veya farklı olması
- Bir olgunun sağır ve dilsiz olması, bir olgunun demans olması sebebiyle anamnezin yakınlarından alınması
- Bazı olguların aşırı obezliği sebebiyle uygun manşon bulunamadığından kan basıncının ve uygun mezur bulunmadığı için bel ve kalça çevresinin ölçülememesi
- Bazı olguların amputasyon, hemipleji, artroz gibi sebeple ayakta duramadıkları için vücut ağırlığı, boy, impedans yağ ölçümü, bel ve kalça ölçümü yapılamaması verilerin eksik toplanmasına sebep olmuştur.

#### *8. Tez Danışman Kısıtlılığı:*

Tez danışmanının meşguliyetleri ve üniversiteden ayrılmak zorunda olması, deneylerin ve istatistiki analizlerin danışılmasında gecikme yaratmıştır. Oluşan danışman değişimi, motivasyon kaybı ve deneylerin sonuçlarının danışılmasının, istatistiki analizlerin yorumunun yapılmasının ve tez yazımının gecikmesine sebep olmuştur.

## 4.BÖLÜM

### 4.BULGULAR

#### 4.1.ANALİTİK YÖNTEME İLİŞKİN BULGULAR

*Triton X-100 Optimizasyonu:*

Tablo 27: Optimal Triton X-100 konsantrasyonunu saptamak için yapılan deney sonuçları

	Triton X-100 içeren reaktifler								
	%4,4	%4	%3,6	%3,3	%3	%2,7	%2,4	%2	%1,6
	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$	$\Delta A_{505}$
150 $\mu$ mol/L DHA	0,037	0,036	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,055	0,037
300 $\mu$ mol/L DHA	0,071	0,070	0,072	0,072	0,073	0,073	0,073	0,069	0,073
450 $\mu$ mol/L DHA	0,097	0,096	0,099	0,100	0,101	0,102	0,101	0,097	0,102
600 $\mu$ mol/L DHA	0,139	0,139	0,143	0,142	0,145	0,145	0,144	0,138	0,146
750 $\mu$ mol/L DHA	0,174	0,174	0,176	0,178	0,180	0,180	0,180	0,164	0,177
900 $\mu$ mol/L DHA	0,207	0,206	0,212	0,210	0,214	0,214	0,213	0,165	0,209
					*	*	*		

\* Optimal olduğu saptanan konsantrasyonlar

*Tekrarlanabilirlik (Precision):*

Tablo 25: Tekrarlanabilirlik deney sonuçları

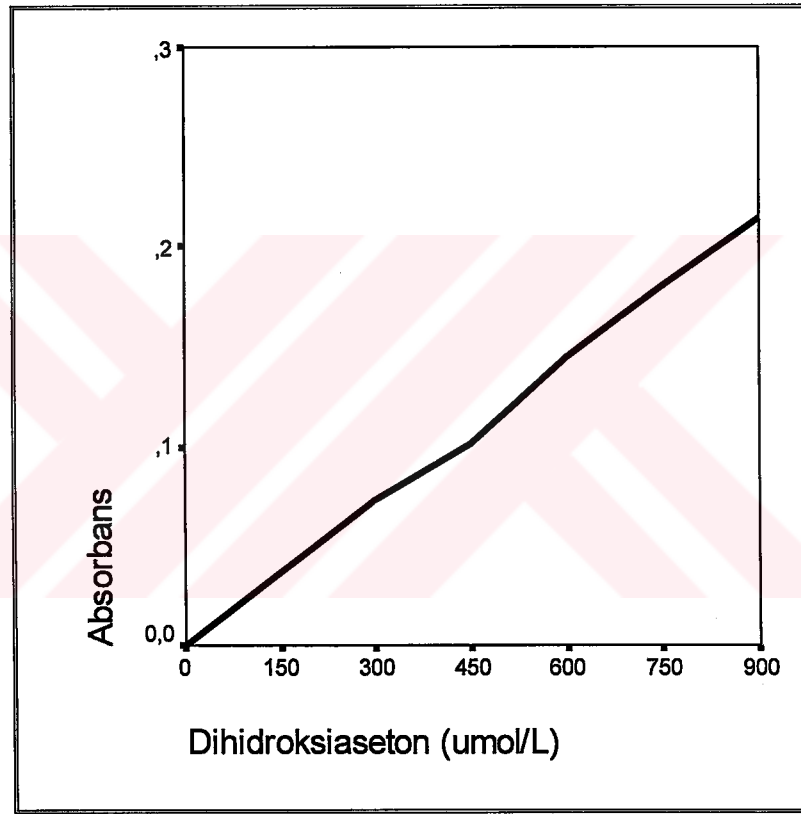
	Gün içi tekrarlanabilirlik (n=10)	Günler arası tekrarlanabilirlik (n=10)
Normoglisemik serum havuzu	474, 471, 475, 480, 472, 477, 479, 480, 476, 477	480, 479, 469, 455, 446, 468, 458, 475, 477, 477
	X 476	X 468
	SD 4	SD 3
	CV %0,7	CV %2,5
Hiperglisemik serum havuzu	580, 582, 591, 585, 575, 578, 581, 580, 580, 582	583, 588, 586, 565, 587, 566, 570, 562, 584, 570
	X 581	X 576
	SD 3	SD 2
	CV %0,7	CV %1,8

*Doğruluk (Accuracy):*

Tablo 26: Doğruluk deney sonuçları

Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )	Bulunan Değer	Hedef Değer
Normoglisemik serum havuzu	237	249
Hiperglisemik serum havuzu	320	335

*Kalibrasyon:*



Grafik 1: Fruktozamin Analizi Kalibrasyon Eğrisi

#### 4.1.GRUPLARIN BAZI TANIMLAYICI İSTATİSTİKLERİ

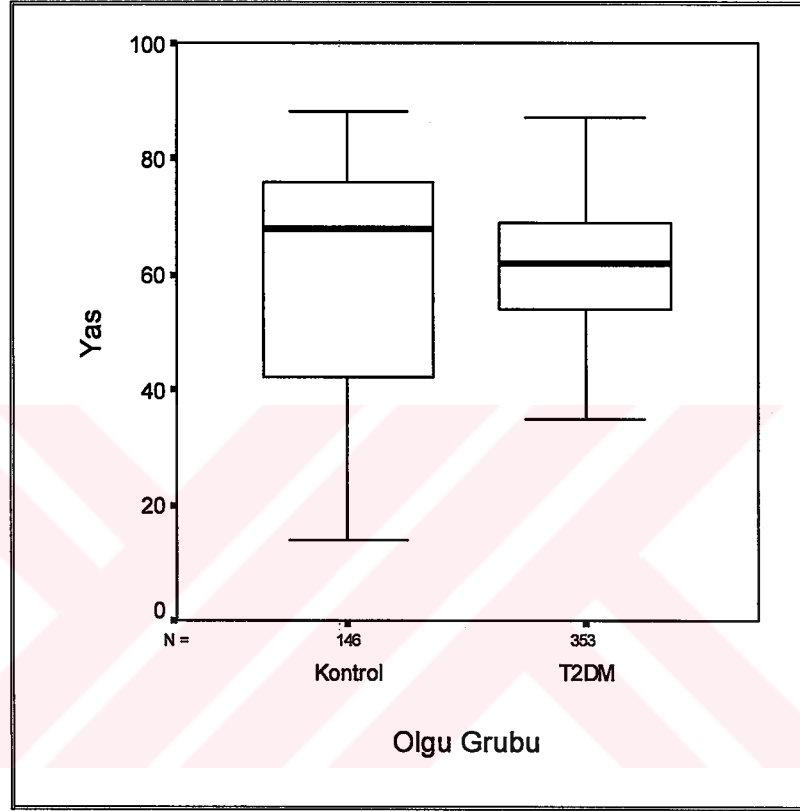
Bu bölümde kontrol ve T2DM'li olguların yaş ve cinsiyet dağılımları belirlendi.

##### 4.1.1.Yaş Dağılımları

Kontrol ve T2DM'li olguların yaş ortalamaları arasında fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 28: Kontrol ve T2DM'li Olguların Yaş Ortalamalarının Karşılaştırılması

	n	Ortalama	SD
Kontrol	138	60	20
T2DM	348	61	11
Toplam	486	61	14



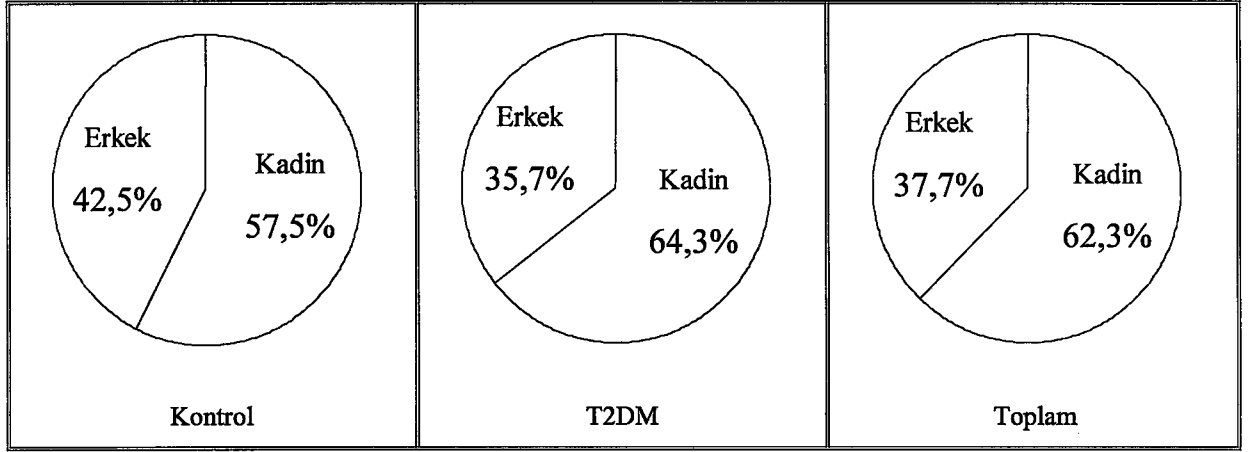
Grafik 2 : Kontrol ve T2DM'li Olguların Yaş Dağılımları

#### 4.1.2.Cinsiyet Dağılımları

Kontrol ve T2DM'li olgular arasında, cinsiyet bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 29: Kontrol ve T2DM'li Olguların Cinsiyet Dağılımları

	Olgu Grupları		Toplam
	Kontrol	T2DM	
Kadın	84 %57,5	227 %64,3	311 %100
Erkek	62 %42,5	126 %35,7	188 %100
Toplam	146 %29,3	353 %70,7	499 %100



Grafik 3 : Kontrol ve T2DM'li Olguların Cinsiyet Dağılımları

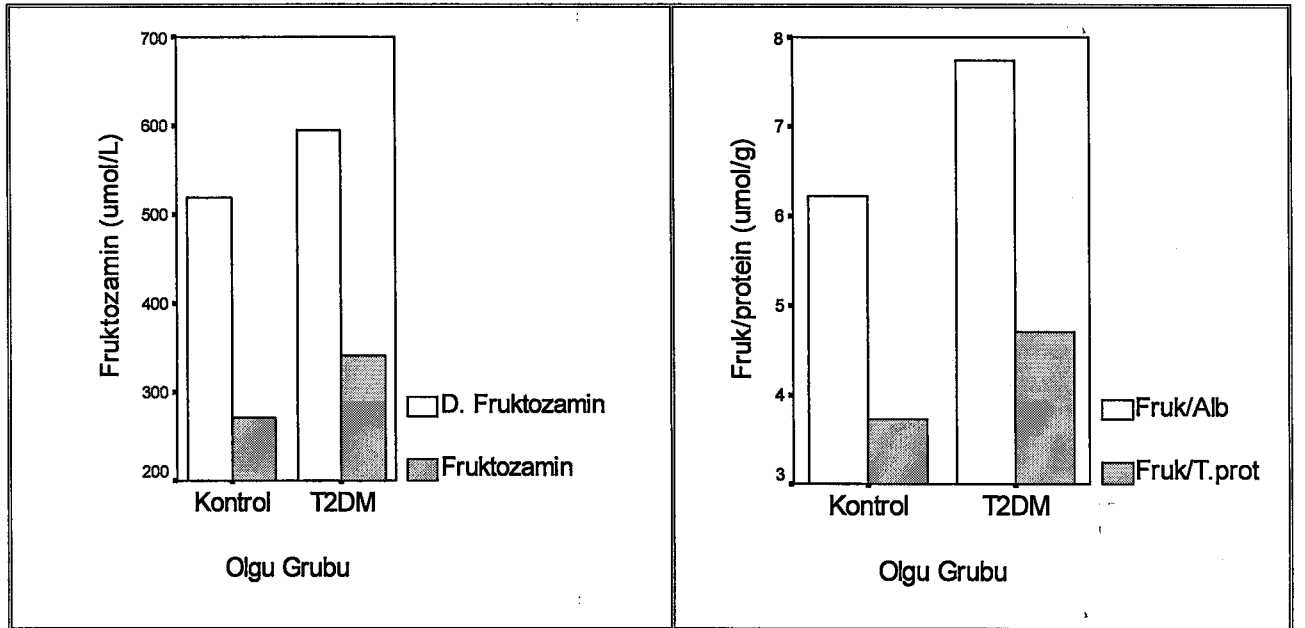
## 4.2. GRUPLARIN BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI VE İLİŞKİLENDİRİLMESİ

Bu bölümde kontrol ve T2DM'li olgularda, çeşitli parametrelere göre serum fruktozamin ölçüm ortalamaları karşılaştırıldı. Ayrıca glisemi takibinde kullanılan diğer testler ve komplikasyonlarla ilişkisi belirlendi.

### 4.2.1. Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

#### 4.2.1.1. Olgu Gruplarına Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

T2DM'li olguların serum fruktozamin ortalaması, kontrol olgularından daha yüksek olup; fark anlamlıdır ( $p < 0,05$ ).

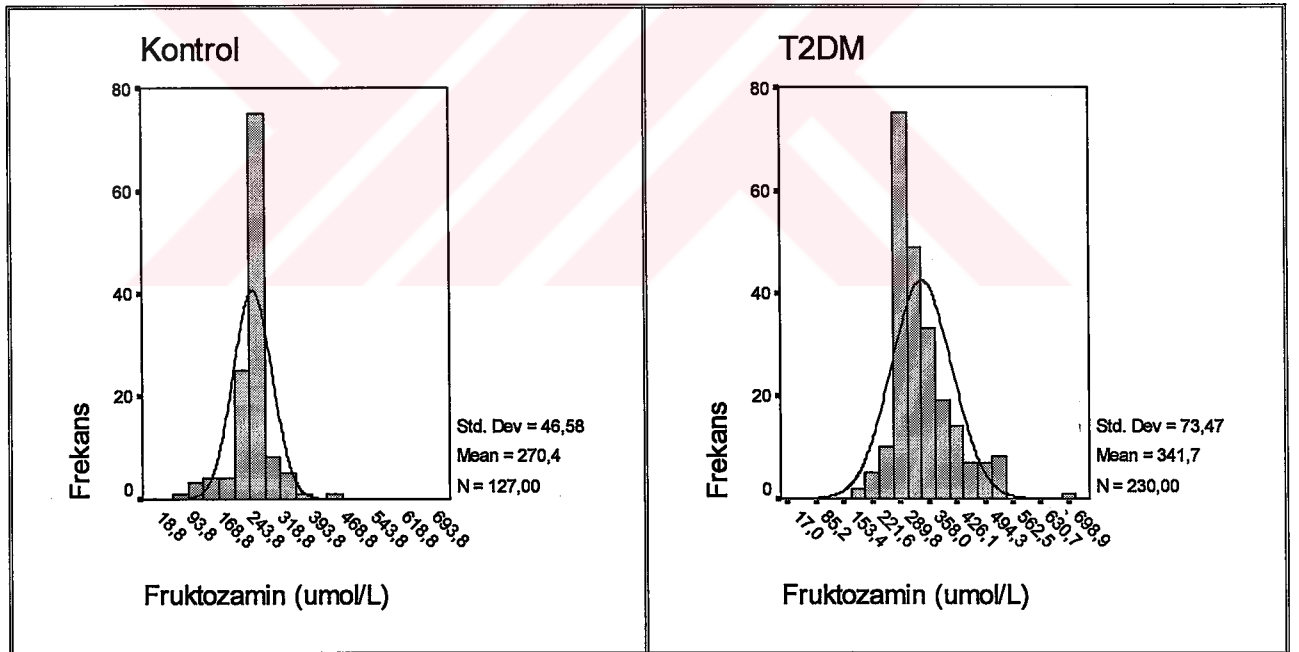


Grafik 4: Kontrol ve T2DM'li Olguların Fruktozamin Düzeyleri

Tablo 30: Kontrol ve T2DM'li Olguların Bazı Parametrelerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları						t	p
	Kontrol			T2DM				
	n	Ort	SD	n	Ort	SD		
Düzeltilmemiş fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )	127	519	73	224	595	84	-8,04	$p<0,05$
Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )	127	270	47	224	342	74	-11,19	$p<0,05$
Fruktozamin/albumin oranı ( $\mu\text{mol/g}$ )	127	6,2	1,3	224	7,8	2,3	-7,96	$p<0,05$
Fruktozamin/total protein oranı ( $\mu\text{mol/g}$ )	127	3,7	0,7	224	4,7	1,1	-9,88	$p<0,05$
Ürik asid (mg/dL)	144	5,2	1,7	315	5,2	1,6	0,67	$p>0,05$
Total protein (g/dL)	144	7,3	0,5	323	7,3	0,6	0,40	$p>0,05$
Albumin (g/dL)	142	4,4	0,4	323	4,5	0,4	-1,58	$p>0,05$
AKŞ (mg/dL)	143	91	16	346	153	61	-17,33	$p<0,05$
TKŞ (mg/dL)	2	92	21	240	211	100		$*p<0,05$
HbA <sub>1c</sub> (%)	111	5,5	0,6	317	7,4	1,9	-15,5	$p<0,05$

**\*\*Mann-Whitney U testi\*\* ile analiz edilmiştir.**



Grafik 5 : Kontrol ve T2DM'li Olguların Fruktozamin Dağılımları

#### 4.2.1.2. Cinsiyete Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

Kontrol ve T2DM'li olgularda, cinsiyete göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 31: Fruktozamin ve Bazı Parametrelerin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

	Cinsiyet	Olgu Grupları					
		Kontrol			T2DM		
		N	Ort	SD	n	Ort	SD
Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )	K	75	275	36	153	340	70
	E	52	264	58	77	346	80
AKS (mg/dL)	K	82	90	13	223	140	60
	E	61	93	20	123	161	63
TKS (mg/dL)	K	1	77	-	158	194	83
	E	1	106	-	82	243	120
HbA1c (%)	K	73	5,5	0,6	208	7,3	1,8
	E	38	5,6	0,7	109	7,6	2,1
Total protein (g/dL)	K	83	7,2	0,4	211	7,4	0,5
	E	61	7,4	0,5	112	7,2	0,6
Albumin (g/dL)	K	82	4,4	0,3	210	4,5	0,4
	E	60	4,5	0,5	113	4,4	0,5
Ürik asid (mg/dL)	K	83	4,9	1,5	205	5,0	1,6
	E	61	5,8	1,7	110	5,5	1,4

#### 4.2.1.3. Yaşa Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

Kontrol ve T2DM'li olgularda, yaşa göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 32: Yaşa Göre Serum Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
0-40 yaş	29	272	60	7	300	63
41-60 yaş	21	248	56	104	346	73
>61 yaş	77	276	36	119	340	73

Tablo 33: Yaşa Göre Serum Total Protein ve Albumin Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Olgular											
	Kontrol						T2DM					
	Total protein (g/dL)			Albumin (g/dL)			Total protein (g/dL)			Albumin (g/dL)		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD	n	Ort	SD	N	Ort	SD
<40 yaş	33	7,6	0,4	9	4,7	0,3	33	7,0	0,9	9	4,3	0,5
41-60 yaş	28	7,4	0,4	141	4,5	0,2	28	7,3	0,5	141	4,6	0,3
>61 yaş	83	7,2	0,5	173	4,2	0,4	83	7,3	0,6	173	4,4	0,5

#### 4.2.1.4. Alışkanlıklara Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

##### *Sigara İçme Alışkanlığına Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, sigara içme alışkanlığına göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 34: Sigara İçme Alışkanlığına Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Sigara içmiyor	96	271	47	205	342	71
Sigara içiyor	31	268	46	56	302	81

##### *Alkol Alışkanlığına Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, alkol alışkanlığına göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 35: Alkol Alışkanlığına Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	N	Ort	SD
Alkol kullanmıyor	113	270	46	222	269	57
Alkol kullanıyor	12	341	73	8	352	93



#### 4.2.1.5.Fiziksel Aktiviteye Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

##### *Ev Aktivitesine Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, ev aktivitesine göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 36: Ev Aktivitesine Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	N	Ort	SD
Ev işi yapmıyor	112	271	49	89	342	70
Ev işi yapıyor	15	264	23	139	343	76

##### *İş Aktivitesine Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, iş aktivitesine göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 37: İş Aktivitesine Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
İşte çalışmıyor	80	276	33	212	342	72
İşte çalışıyor	47	260	62	17	343	98

##### *Egzersize Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, egzersize göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 38: Egzersiz Aktivitesine Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Egzersiz yapmıyor	102	268	48	162	345	77
Egzersiz yapıyor	25	279	38	68	334	65

#### 4.2.1.6. Diyete Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

Kontrol ve T2DM'li olgularda, diyete göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 39: Diyete Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM		
	N	Ort	SD
DM diyeti yapmıyor	122	343	73
DM diyeti yapıyor	108	340	75

#### 4.2.1.7. Hastalık Süresine Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

*Hastalık Başlama Yaşına Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

T2DM'li olgularda, başlama yaşına göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından 41-60 yaş grubu ile diğer yaş grupları arasında fark olup; fark anlamlıdır ( $p<0,05$ ).

Tablo 40: Hastalık Başlama Yaşına Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li olgular		
	n	Ort	SD
<40 yaş	37	366	82
41-60 yaş	131	337	71
>60 yaş	44	330	51

*Hastalık Yılına Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

T2DM'li olgularda, hastalık yılına göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından 0-10 yıl ile diğer DM süreleri arasında fark olup; fark anlamlıdır ( $p<0,05$ ).

Tablo 41: DM Süresine Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li olgular		
	n	Ort	SD
0-10 yıl	128	326	60
11-20 yıl	64	368	80
>21 yıl	20	369	106

#### 4.2.1.8.İlaçlara Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

##### *Antidiabetik kullanmasına Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

T2DM'li olgularda, antidiabetik kullanmasına göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark olup; fark anlamlıdır ( $p<0,05$ ).

Tablo 42: Antidiabetik kullanmasına Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li olgular		
	n	Ort	SD
Antidiabetik ilaç kullanmıyor	49	316	64
Antidiabetik ilaç kullanıyor	181	349	75

##### *Kullandığı Diğer İlaçlara Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

T2DM'li olgularda, kullandığı diğer ilaçlara göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 43: Kullandığı Diğer İlaçlara Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li olgular		
	n	Ort	SD
İlaç kullanmıyor	45	360	99
Etkisi tahmin edilemeyen ilaç kullanıyor	163	337	64
Hipoglisemik etkili ilaç kullanıyor	13	358	88
Hiperглиsemik etkili ilaç kullanıyor	9	309	42

#### 4.2.1.9.Fiziksel Ölçülere Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması

##### *BMI'e Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, BMI'e göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 44: BMI'e Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Non-obez (BMI<27)	85	272	47	92	337	79
Obes (BMI>27)	36	270	47	126	347	72

#### *WHR'e Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, WHR'e göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Tablo 45: WHR Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Periferik şişmanlığı olan ( $\text{WHR}<0,8$ )	12	278	61	13	312	52
Santral şişmanlığı olan ( $\text{WHR}>0,8$ )	107	271	45	188	347	76

#### *İmpedans Ölçümüne Göre Serum Fruktozamin Ortalamalarının Karşılaştırılması:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, impedans ölçümüne göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur (Erkekler için  $p>0,05$ , kadınlar için  $p>0,05$ ).

Tablo 46: İmpedans Ölçümüne Göre Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ ) Düzeylerinin Karşılaştırılması

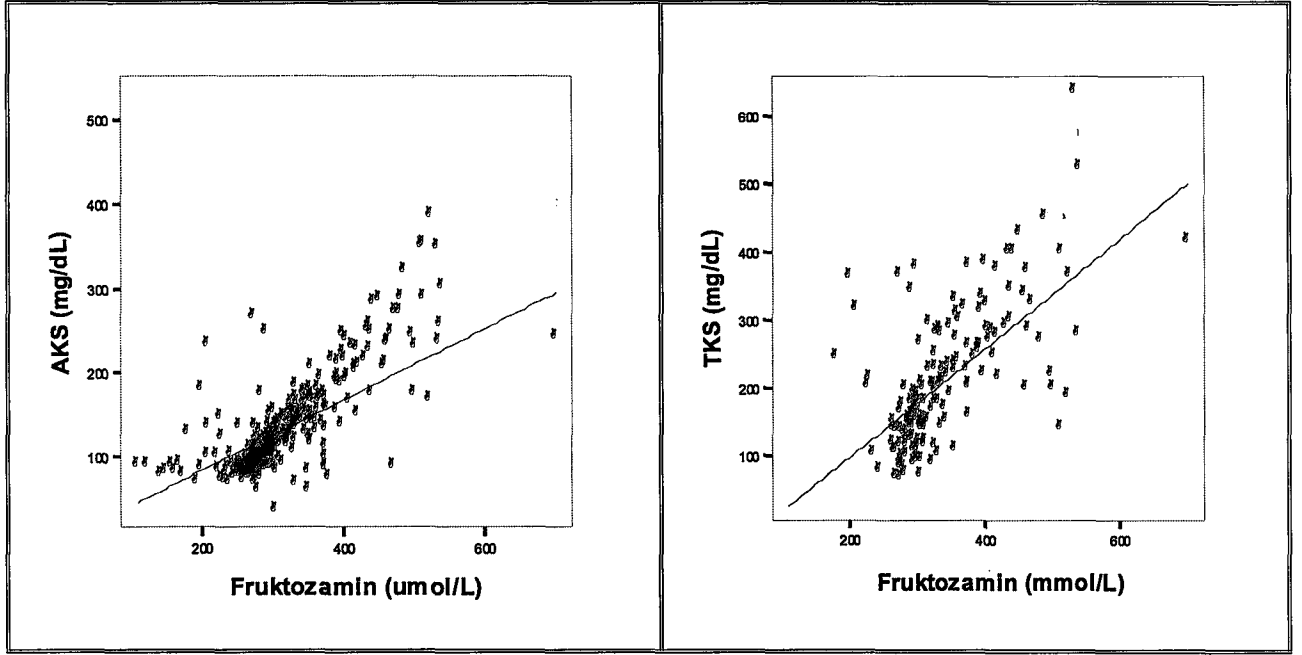
	Olgu Grupları					
	Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Non-obez Kadın ( $\text{İmp}<\%35$ )	37	278	39	48	330	59
Obez Kadın ( $\text{İmp}>\%35$ )	28	270	36	84	346	75
Non-obez Erkek ( $\text{İmp}<\%25$ )	23	258	59	22	340	54
Obez Erkek ( $\text{İmp}>\%25$ )	23	272	89	39	355	78

#### **4.2.2.Serum fruktozamin düzeylerinin glisemi izlem testleri ve komplikasyonlarla ilişkilendirilmesi**

##### **4.2.2.1.Serum fruktozamin düzeylerinin glisemi izlem testleriyle ilişkilendirilmesi**

###### *Serum Fruktozamin Düzeylerinin Kan Şekeri ile İlişkilendirilmesi:*

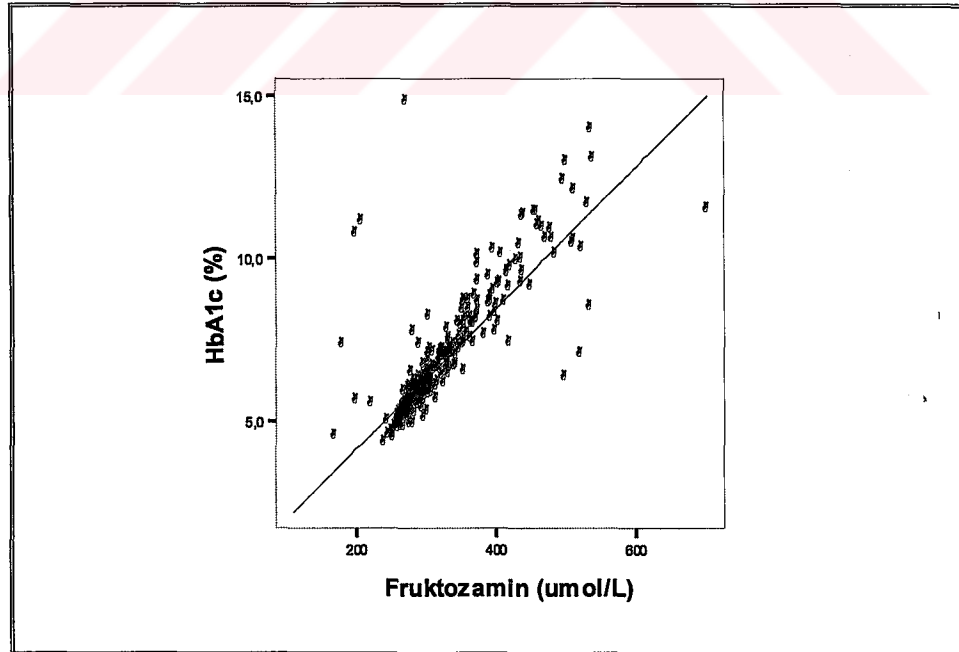
Serum fruktozamin konsantrasyonları ile AKŞ ve TKŞ konsantrasyonları arasında anlamlı korelasyon saptandı (AKŞ için  $r=0,785$ ,  $p<0,05$ ; TKŞ için  $r=0,629$ ,  $p<0,05$ ).



Grafik 6: Serum Fruktozamin Düzeylerinin Kan Şekeri ile Karşılaştırılması

*Serum Fruktozamin Düzeylerinin HbA<sub>1c</sub> ile İlişkilendirilmesi:*

Serum fruktozamin konsantrasyonları ile HbA<sub>1c</sub> konsantrasyonları arasında anlamlı korelasyon saptandı ( $r=0,817$ ,  $p<0,05$ ).



Grafik 7: Serum Fruktozamin Düzeylerinin HbA<sub>1c</sub> ile Karşılaştırılması

#### 4.2.2.2.Serum Fruktozamin Düzeylerinin Komplikeasyonlar ve Komplikeasyon İzlem Testleriyle İlişkilendirilmesi

##### *Serum Fruktozamin Düzeylerinin Komplikeasyon Varlığı ile İlişkilendirilmesi:*

T2DM'li olgularda komplikeasyon varken, komplikeasyon yokkene göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ); HbA<sub>1c</sub> ortalamaları bakımından anlamlı fark vardır ( $p<0,05$ ). Komplikeasyon gelişme süresine göre sınıflandırılarak yapılan ilişkilendirmede, serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ); 7-8 nolu komplikeasyonları (retinopati ve nefropati) olan T2DM'li olgularda, diğer gruptakilere göre HbA<sub>1c</sub> ortalamaları bakımından anlamlı fark vardır ( $p<0,05$ ).

Tablo 47: T2DM'lilerde Komplikeasyon Varlığına Göre Fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li Olgular					
	Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )			HbA <sub>1c</sub> (%)		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Komplikeasyon yok	76	333	76	98	7,0	1,6
Komplikeasyon var	154	346	72	219	7,5	2,0

Tablo 48: Komplikeasyon Türlerine Göre Sınıflandırıldığında Fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li Olgular					
	Fruktozamin ( $\mu\text{mol/L}$ )			HbA <sub>1c</sub> (%)		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
1-2* nolu komplikeasyonlar var	79	336	64	106	7,1	1,8
3-6* nolu komplikeasyonlar var	47	352	81	73	7,7	2,0
7-8* nolu komplikeasyonlar var	28	363	78	40	8,2	2,2

\*Komplikeasyonlar; 1.Dislipidemi, 2.Hipertansiyon, 3.Koronar Arter Hastalığı, 4.Periferik Arter Hastalığı, 5.Serebrovasküler Hastalık, 6.Nöropati, 7.Retinopati, 8.Nefropati olarak değerlendirilmiştir.

##### *Serum Fruktozamin Düzeylerinin Kan Basıncı ile İlişkilendirilmesi:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, kan basıncına göre serum fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ )

Tablo 49: T2DM'lerde Fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> Düzeyleri İle KB Karşılaştırılması

	Fruktozamin (µmol/L)						HbA <sub>1c</sub> (%)					
	Kontrol			T2DM			Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Hipertansiyon yok	103	269	49	131	338	75	87	5,5	0,6	176	7,3	1,9
Hipertansiyon var *	18	287	126	79	347	72	18	5,6	0,5	112	7,5	1,9

\*Hipertansiyon; KB>140/90 mmHg olarak değerlendirilmiştir.

*Serum Fruktozamin Düzeylerinin Serum Lipid Düzeyleri ile İlişkilendirilmesi:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, serum lipid düzeylerine göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ); HbA<sub>1c</sub> ortalamaları bakımından anlamlı fark vardır ( $p<0,05$ ).

Tablo 50: T2DM'lerde Fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> Düzeyleri ile Hiperlipidemi Karşılaştırılması

	Fruktozamin (µmol/L)						HbA <sub>1c</sub> (%)					
	Kontrol			T2DM			Kontrol			T2DM		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD	n	Ort	SD	N	Ort	SD
Hiperlipidemi yok	51	274	48	109	335	68	44	5,4	0,6	156	7,2	1,7
Hiperlipidemi var*	74	267	46	115	348	79	66	5,6	0,6	152	7,6	2,0

\*Hiperlipidemi; trigliserit>190mg/dL veya total kolesterol>200mg/dL olarak değerlendirilmiştir.

*Serum Fruktozamin Düzeylerinin İdrar Mikroalbumin Düzeyleri ile İlişkilendirilmesi:*

Kontrol ve T2DM'li olgularda, idrar mikroalbumin düzeylerine göre serum fruktozamin ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0,05$ ); HbA<sub>1c</sub> ortalamaları bakımından anlamlı fark vardır ( $p<0,05$ ).

Tablo 51: T2DM'lilerde Mikroalbuminüriye Göre Fruktozamin ve HbA<sub>1c</sub> Düzeylerinin Karşılaştırılması

	T2DM'li Olgular					
	Fruktozamin (µmol/L)			HbA <sub>1c</sub> (%)		
	n	Ort	SD	n	Ort	SD
Mikroalbuminüri yok	184	344	76	258	7,4	1,9
Mikroalbuminüri var*	15	363	81	17	8,3	2,9

\*Mikroalbuminüri; idrarda mikroalbumin>300mg/24saat olarak değerlendirilmiştir.

## 5.BÖLÜM

### 5.TARTIŞMA VE SONUC

#### **5.1.Fruktozamin Testinin Otomasyonu ve Laboratuvar Performansının Değerlendirilmesi**

##### *Fruktozamin Ölçümünde NBT Yönteminin ve Analitik Koşulların Değerlendirilmesi*

Günümüzde fruktozamin analizinde en yaygın olarak kullanılan yöntem NBT redüksiyonuna dayanır. Bu yöntem oldukça duyarlı bir teknik olup;  $\mu\text{mol/L}$  düzeyinde fruktozamin saptanabilmektedir. Düşük maliyetli, hassas, basit, kolaylıkla otomatize edilebilir olması gibi avantajları sebebiyle bu çalışmada fruktozamin analizinde NBT yöntemi kullanıldı.

Fruktozamin yöntemlerinin en önemli problemlerinden biri standardizasyon zorluğudur. Stabil ve tekrarlanabilir glike protein elde etmek zor olduğundan içinde bilinen miktarda stabil fruktozamine sahip standart üretmek çok güçtür. Fakat günümüzde artık bu amaçla sentetik büyük molekül ağırlıklı glike polilizin standartları kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca Phillipou ve arkadaşlarının test ettiği gibi, bir trioz olan dihidroksiaseton'un redoks potansiyeli ve reaksiyon kinetiği fruktozamine benzemektedir (43). Polilizin materyellerin temin zorluğu ve pahalı olması sebebiyle, bu çalışmada dihidroksiaseton standart olarak kullanıldı.

Fruktozamin ölçümü sırasında, NBT redüksiyonunda oluşan önemli bir sorun da diformazan bileşiğinin yeterli çözünmemesidir. Taş ve arkadaşlarının uyguladığı gibi; diformazan'ın yeterli çözünmesini sağlamak amacıyla bu çalışmada kullanılan reaktiflere noniyonik bir deterjan olan "Triton X-100" eklendi (43, 44). Ancak bu madde bir petrol türevidir için, üretim lotuna bağlı olarak içinde değişik miktarda redüktan veya oksidan etkisi olabilecek bir takım maddeler içerebileceğinden, NBT reaksiyonunu da interfere edebilir. Hem diformazan'ın optimal çözünürlüğünün sağlandığı, hem de içindeki interferans kaynaklarının etkisinin minimal olduğu "Triton X-100" konsantrasyonu kullanılan lotta test edildi. En yüksek absorbansı veren konsantrasyonların %2,4, %2,7, %3 olduğu saptandı. Ortadaki konsantrasyon olan %2,7 seçilerek analizlerde kullanıldı (Tablo 25). Reaktiflere bu konsantrasyonda Triton X-100 eklendi.

Schleicher ve arkadaşları; içerdiği nonspesifik bileşenlere bağlı olarak serumun redükleyici aktiviteye sahip olduğunu ve bunun fruktozamin ölçümü sırasında, NBT redüksiyonunda etkili olduğunu bildirmişlerdir (63). Guemori ve arkadaşları, bu nonspesifik



redükleyici aktivitenin kişiden kişiye, oksidan strese maruziyet derecesi (sigara, alkol alışkanlığı, ilaçlar vs) ile antioksidan sistem enzimlerinin aktivite derecesine göre değiştiğini öne sürmüşlerdir (64). Ayrıca serumda fruktozamin ölçümünü etkileyen diğer major interferans kaynağı da ürik asid olduğu bilinmektedir. Fruktozamin ölçüm yönteminin spesifikliğini engelleyen bu iki interferans etkiyi ortadan kaldırmak veya düzeltmek amacıyla yöntemde iki önemli strateji kullanıldı. Birincisi NBT reaksiyonunda ilk 10dk latent periyod beklenilerek, nonspesifik redükthanların etkilerinin nötralize olması sağlandı. İkincisi spesifik redükthan olan ürik asidin interferans etkisi matematiksel olarak düzeltildi. Taş ve arkadaşlarının, yaptıkları araştırmalarla saptadıkları ürik asidin interferans etkisi, ölçülen fruktozamin değerinden çıkartıldı (44).

NBT yöntemiyle fruktozamin analizini otomatize etmek için, 10.dk ve 15.dk'larda absorbans okumaya ve program eklemeye uygun analizör gereklidir. Günümüzdeki otoanalizörlerin çoğu; sadece kendi kitleri ile çalışan, en fazla 10dk'a kadar absorbans okuyabilen ve program eklemeye uygun olmayan kapalı sistemler olarak üretilmektedir. İstenilen niteliklere uyan "Hitachi 912" (Boehringer Mannheim) otoanalizörü bu amaçla kullanıldı. Aynı zamanlarda, üç ayrı cihazla çalışılmak zorunda olunmasına rağmen, tüm cihazlarda testin laboratuvar performansı test edildikten sonra analizler yapıldı.

#### *Laboratuvar Performansının Değerlendirilmesi*

##### *Tekrarlanabilirlik (Precision):*

İki ayrı konsantrasyonda fruktozamin içeren serum havuzları ile yapılan çalışmada, gün içi ve günler arası CV'ler uygun bulunmuştur.

##### *Doğruluk (Accuracy):*

Piyasadan elde edilen ticari kalite kontrol serumlarıyla yapılan fruktozamin ölçümlerinde değerlerin çok düşük çıkması sebebiyle, diğer parametrelerin de analizi sonrasında içeriğindeki total protein ve albumin değerlerinin de düşük çıkması üzerine bu çalışmada kullanılmayacakları saptandı. Bunun üzerine yeterli popülasyondan elde edilen serum havuzları test edilerek kullanıldı. Kullanılan serum havuzu ile yapılan çalışmada fruktozamin hedef değere yakın olarak ölçülmüştür.

## 5.2.Fruktozamin Testinin Klinik Yararlılığının Değerlendirilmesi

### *Olgu Seçiminin Değerlendirilmesi*

Son yıllarda, DM özellikle gelişmiş ülkelerde artışıyla önemli bir sorun haline gelmiştir. Henüz fizyopatolojisi aydınlatamayan bu hastalığın gidişinin ve komplikasyonların gelişiminin, glisemi düzeyiyle yakından ilgili olduğu gösterildikten sonra glisemi izleminde kullanılan laboratuvar yöntemlerinin önemi artmıştır. Fruktozamin analizinin ölçüm yöntemiyle ve DM izleminde kullanılmasıyla ilgili yayınlar 1980-1990 yılları arasında yoğunlaşmaktadır. Günümüzde özellikle moleküler biyoloji ve genetiğin gelişmesi, ilginin bu alana kayması sebebiyle, DM fizyopatolojisi üzerine oldukça fazla yayın yapılmaktadır. Fakat ADA'nın "DM'de kullanılan testler"le ilgili yayınladığı son yayında işaret ettiği gibi, glike serum proteinlerinin (fruktozamin) DM komplikasyonlarıyla ilişkisi ve bu açıdan klinik yararlılığı henüz ortaya konamamıştır (46). Bunu göstermek amacıyla, uzun dönemli komplikasyonların daha yaygın görüldüğü T2DM'li hasta grubu üzerinde bu çalışma planlandı.

### *Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi*

#### *Kontrol ve T2DM'lilerde Fruktozamin Düzeyi Farklılığı:*

Kontrol grubunu oluşturan 127 olgu ve T2DM hasta grubunu oluşturan 224 olguda, yapılan fruktozamin ölçüm sonuçlarının ortalamaları sırasıyla  $270 \pm 47$   $\mu\text{mol/L}$  ve  $342 \pm 74$   $\mu\text{mol/L}$  değerlerinde bulunmuş olup; aralarındaki fark anlamlıdır ( $p < 0,05$ ). Ayrıca, serum protein ve albumin içeriğine göre fruktozamin değerlerinin düzeltilmesi amacıyla, fruktozamin/ total protein ve fruktozamin/ albumin oranları değerlendirildiğinde, T2DM'lilerde anlamlı ölçüde daha yüksek saptandı ( $p < 0,05$ ) (Grafik 3).

Bu populasyon örneklerinde T2DM'li olguların kontrol olgularına göre, serum fruktozamin konsantrasyonları anlamlı ölçüde daha yüksektir. Bu, Taş ve arkadaşlarının saptadıkları,  $249 \pm 61$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $343 \pm 76$   $\mu\text{mol/L}$  bulgularıyla uyumludur (44). Bulgular arasındaki ufak fark ise, populasyonlar arası farka bağlandı.

#### *Fruktozamin Düzeyinin Cinsiyet ve Yaşa Göre Değişimi:*

Bu populasyon örneklerinde serum fruktozamin konsantrasyonlarının, yaşa ve cinsiyete bağlı değişmediği saptanmıştır. Bu, Baker ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur (31, 51). Fakat Taş ve arkadaşları, kontrol grubunda erkeklerde serum fruktozamin konsantrasyonu

yüksekliğini ve yaş yükseldikçe serum fruktozamin konsantrasyonlarının yükseldiğini saptamışlardır. Bu bulguları, albumin konsantrasyonu farkına bağlamışlardır (44). Bu tez çalışmasındaki popülasyonda ise her iki cinsiyette ve yaş dağılımlarında serum albumin ve total protein düzeylerinde fark saptanmamıştır (Tablo 31-32).

#### *Fruktozamin Düzeyininin Tedaviye Göre Değişimi:*

DM tedavi izlemlerinde, kötü alışkanlıkların bırakılması, fiziksel aktivite, diyet ve antidiabetik ilaçları içine alan kombine tedavinin etkinliği izlenir. Bu amaçla, yapılan kesitsel çalışmadan elde edilen veriler istatistiki olarak analiz edildiğinde; bu popülasyon örneklerinde serum fruktozamin konsantrasyonları; kötü alışkanlıklara (sigara içimi, alkol kullanımı), fiziksel aktiviteye (ev aktivitesi, iş aktivitesi, egzersiz) ve diyete bağlı değişmemektedir; ama antidiabetik ilaç kullanımı ile yükselmektedir. Bu bulgunun aksine Taş ve arkadaşlarının Kuveyt popülasyonunda yaptıkları kesitsel çalışmada elde ettiği bulgularda, antidiabetik ilaç kullananlarda serum fruktozamin düzeylerini düşük bulmuşlardır. Oysa bu tez çalışmasında, antidiabetik kullananlarda fruktozamin düzeylerinin yüksek bulunması, bu olgularda glisemik kontrolün, sadece diyet tedavisi alanlara kıyasla daha bozuk olduğunu göstermektedir. Fakat bu bulguları sağlıklı değerlendirmek için fruktozamin ölçümlerinin olgu grubunda seri olarak yapılması gerekmektedir; kesitsel çalışma ile bunu değerlendirmek zordur.

#### *Fruktozamin Düzeyininin DM Süresi ve Obeziteye Göre Değişimi:*

Bu popülasyon örneklerinde serum fruktozamin konsantrasyonlarının, DM'nin ilk 10 yılında daha ileri yıllara kıyasla düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 41). Buna paralel olarak; DM başlangıç yaşının da fruktozamin konsantrasyonunu etkilediği, erken yaşta DM başlayanlarda daha yüksek düzeylere ulaştığı belirlenmiştir (Tablo 40). Tüm bu bulgular DM süresi ile proteinlerin nonenzimatik glikasyon derecesinin yakından ilgili olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu popülasyon örneklerinde serum fruktozamin konsantrasyonlarının obeziteye bağlı değişmemektedir. Woo ve arkadaşları da, obezitenin serum fruktozamin konsantrasyonuna etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (66).

#### *Fruktozaminin Glisemi Takininde Kullanılan Diğer Parametrelerle Korelasyonu:*

Fruktozamin konsantrasyonlarının; glisemi izleminde kullanılan diğer testlerin konsantrasyonları ile korele olduğu saptandı (AKŞ için  $r=0,785$ ,  $p<0,05$ ; TKŞ için  $r=0,629$ ,

$p < 0,05$ ; HbA<sub>1c</sub> için  $r = 0,817$ ,  $p < 0,05$ ). Bu güçlü korelasyonu daha önce Baker ve arkadaşları AKŞ ile  $r = 0,82$ , HbA<sub>1c</sub> ile  $r = 0,87$  olarak saptamışlardır. (31, 51).

#### *Fruktozamin Düzeyininin Uzun Dönemli Komplikasyonlarla İlişkisi*

T2DM'li olguların fruktozamin düzeyleri ortalamaları; komplikasyon olmayanlarda  $333 \pm 76$   $\mu\text{mol/L}$ , komplikasyon olanlarda  $346 \pm 72$   $\mu\text{mol/L}$  değerlerinde bulunmuş olup, fark anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ). Buna karşın; HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ortalamaları; komplikasyon olmayanlarda  $7,0 \pm 1,6$ , komplikasyon olanlarda  $7,5 \pm 2,0$  değerlerinde bulunmuş olup, fark anlamlıdır ( $p < 0,05$ ).

Bu kesitsel çalışmada, fruktozamin düzeylerinin komplikasyonların süresi ile de ilişkili olmadığı; kısa, orta ve uzun sürede gelişen komplikasyonlar bulunan hastalar arasında bir fark gözlenmediği ortaya konmuştur. Bu populasyon örneklerinde serum fruktozamin konsantrasyonları; hipertansiyona, hiperlipidemiye ve mikroalbuminüriye bağlı olarak da değişmediği belirlenmiştir. HbA<sub>1c</sub> konsantrasyonları ise, hiperlipidemiye ve mikroalbuminüriye bağlı değişmektedir. Bu durumda kesitsel bir çalışmada elde edilen tek bir fruktozamin değerinin komplikasyonlar açısından bir anlam ifade etmeyeceği ve ardışık ölçümlerin değerlendirilmesinin yararlı olabileceği öne sürülebilir. Rahman ve arkadaşlarının, 18 kataraktlı, 16 retinopatili, 16 periferik nöropatili ve 15 kardiyovasküler komplikasyonluda yaptıkları kesitsel çalışmada da komplikasyonlarla ilişki saptanmamıştır (67). Fakat, DCCT ve UKDPS gibi *prospektif* çalışmalar ile bu ilişki ortaya konmuştur. Bu çalışmalar HbA<sub>1c</sub>'in uzun dönemli komplikasyonların gelişimiyle ilişkisi ve sıkı hiperglisemi tedavisi ile HbA<sub>1c</sub> seviyesinin düşürülmesinin komplikasyon riskini azalttığı ortaya çıkarmıştır (12, 13, 65).

#### **Sonuç olarak;**

1. Laboratuvar açıdan; NBT yöntemiyle fruktozamin analizinde,
  - a. Diformazan'ın optimal çözünürlüğünün sağlanmasının,
  - b. Ürik asid interferansının matematiksel olarak düzeltilmesinin,
  - c. Otomasyonu için açık ve 15.dk kadar absorbands okumaya uygun otoanalizörün,
  - d. Birlikte rutinde ürik asid, albumin ve total protein ölçümünün gerekli olduğu,
2. Klinik açıdan; fruktozamin düzeylerinin,
  - a. T2DM'lilerde kontrol grubundan daha yüksek olduğu; dolayısıyla T2DM'lilerin daha fazla nonenzimatik glikasyona maruz kalma riskine sahip olduğu,

- b. DM klinik belirti, bulguları ve AKŞ, TKŞ, HbA<sub>1c</sub> gibi glisemi izleminde kullanılan diğer parametrelerle korele olduğu,
- c. Bu kesitsel çalışmada komplikasyona sahip T2DM'lilerde fruktozamin düzeylerinin, komplikasyonlara sahip olmayanlarla farklı olmadığı saptanmıştır,

Son söz olarak; uzun dönemli komplikasyonların gelişmesinden sorumlu bir mekanizma olan nonenzimatik glikasyon, DM'lilerde artmıştır. Kısa dönemli nonenzimatik glikasyonun göstergesi olarak fruktozamin ölçümünün, uzun dönemli komplikasyonlarla ilişkilendirmek için uzun hasta izlemlerinin gerçekleştirildiği prospektif çalışmaların (kohort) yapılması gereklidir.



## KAYNAKLAR

1. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation, Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Geneva; 59p., WHO/NCD/NCS/1999;2
2. World Health Organization. World Health Report: Life in the 21st century, A vision for all. Geneva. WHO. 1998; 5
3. National Diabetes Data Group, National Institutes of Health. Diabetes in America, 2nd Edition. Bethesda, MD: National Institutes of Health, NIH Publication No.95-1468, 1995:1-5
4. American Diabetes Association. Economic consequences of diabetes mellitus in the U.S. in 1997. Diabetes Care 1998;21:296-309.
5. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2003 Jan;26 Suppl 1:S5-20.
6. Yenigün M, Altuntaş Y. Her yönüyle Diabetes Mellitus, 2.baskı. Nobel Tıp Kitapevleri.. İstanbul 2001.
7. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. Lancet. 2001 Jul 21;358(9277):221-9. Review.
8. Lebovitz HE. Type 2 diabetes: an overview. Clin Chem. 1999 Aug;45(8 Pt 2):1339-45. Review.
9. Gerich JE. Contributions of insulin-resistance and insulin-secretory defects to the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Mayo Clin Proc. 2003 Apr;78(4):447-56. Review.
10. Felber JP, Haesler E, Jequier E. Metabolic origin of insulin resistance in obesity with and without type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia. 1993 Dec;36(12):1221-9. Review.
11. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. Nature. 2001 Jan 18;409(6818):307-12.
12. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The New England Journal of Medicine, 329, 977-986.
13. Irene M Stratton, Amanda I Adler, H Andrew W Neil, David R Matthews, Susan E Manley, Carole A Cull, David Hadden, Robert C Turner, and Rury R Holman. Association of

- glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321: 405-412.
14. Gillon KR, Hawthorne JN. Sorbitol, inositol and nerve conduction in diabetes. *Life Sci.* 1983 Apr 25;32(17):1943-7.
15. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Third edition W.B.Saunders Company. 1999.
16. John Bernard Henry. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 1999
17. Santiago JV. Overview of the complications of diabetes. *Clin Chem.* 1986 Oct;32(10 Suppl):B48-53. Review.
18. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation: role in the pathogenesis of diabetic complications. *Clin Chem.* 1986 Oct;32(10 Suppl):B37-41. Review.
19. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 1996 Mar;19(3):257-67. Review
20. Ceriello A. The possible role of postprandial hyperglycaemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetologia.* 2003 Mar;46 Suppl 1:M9-M16.
21. Cole RC, Smith AC. *Glycoprotein Biochemistry (Structure and Function)*. Biochemical Education. 1989;17: 179-189
22. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*, Third Edition. Worth Publishers. 2000
23. Lubert Stryer, *Stryer's Biochemistry*, Furth Edition. W.H.Freeman and Company.1991.
24. Maillard LC. Action des acides amines sur les sucres: formation de melandides par voie methodique. *Compt Rend Acad Sci (Paris)* 1912; 154: 66-68
25. Bookchin RM, Gallop PM. Structure of hemoglobin A1c: nature of the N-terminal beta chain blocking group. *Biochem Biophys Res Commun.* 1968 Jul 11;32(1):86-93.
26. Bunn HF. Nonenzymatic glycosylation of protein: relevance to diabetes. *Am J Med.* 1981 Feb;70(2):325-30.
27. Dolpher R, Wieland OH. Glycosation of serum albumin: elevated glycosyl-albumin in diabetic patients. *FEBS Lett* 1979; 103:282-286
28. Anderson SC, Cockayne, *Cinical Chemistry Concepts and Applications*. W.B.Saunders Company. 1993
29. Carter DC, He XM, Munson SH, Twigg PD, Gernert KM, Broom MB, Miller TY. Three-dimensional structure of human serum albumin. *Science.* 1989 Jun 9;244(4909):1195-8.

30. Fisher E, Ueber. Isoglucosamin. *Chem Ber* 1986;19:1920-1924
31. Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetic control. *Clin Chim Acta* 1983; 127: 87-95
32. Armbruster DA. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. *Clin Chem*. 1987 Dec;33(12):2153-63. Review.
33. Acharya As, Manning K, McLennan JM. Amadori rearrangement of glyceraldehyde-hemoglobin Schiff base adducts, a new procedure for the determination of ketamine adducts in proteins. *J Biol Chem* 1980; 255: 7218-7224
34. Ghiggeri GM, Candiano G, Delfino G, Queirolo C. Characterization of the phenylhydrazone derivatives of "glycated albumin" purified from diabetic sera. *Carbohydr Res* 1986; 153:314-317
35. Lenzi S, Sampietro T, Giampetro O, Miccoli R, Mansoni A, Navalesi R. An optimized method to measure glycosylproteins: HPLC assay of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (5-HMF). *Protides Biol Fluid Proc Colloq* 1985;33:567-570
36. Finot PA, Bricout J, Viani R, Mauron J. Identification of a new lysine derivative obtained upon acid hydrolysis of heated milk. *Experientia* 1968;24:1097-1099
37. Schleicher E, Wieland OH. Specific quantitation by HPLC of protein (lysine) bound glucose in human serum albumin and their glycosylated proteins. *J Clin Chem Clin Biochem* 1981;19:81-87
38. Yatscoff RW, Tevaarwerk GJM, MacDonald JC. Quantification of nonenzymatically glycosylated albumin and total serum protein by affinity chromatography. *Clin Chem* 1984;30:446-449
39. Siedel J, Vogt B, Kerschler L, Ziegenhorn J. Serum fructosamine assay: two different color reagents compared with reference to a HPLC-procedure. *Clin Chem* 1988; 34: 1316
40. Hayashi Y, Makino M. Fluorometric measurement of glycosylated albumin in human serum. *Clin Chim Acta* 1985;149:13-19
41. Gottschalk A. Some biochemically relevant properties of N-substituted fructosamines derived from amino-acids and N-arylglucosylamines. *Biochem J* 1952;52:455-460
42. Jones AF, Winkles JW, Thornalley PJ, Lunec J, Jennings PE, Barnett AH. Inhibitory effect of superoxide dismutase on fructosamine assay. *Clin Chem*. 1987 Jan;33(1):147-9.
43. Phillipou G, Seaborn CJ, Phillips PJ. Re-evaluation of the fructosamine reaction. *Clin Chem*. 1988 Aug;34(8):1561-4.



44. Tas S, Zein El Din R. Automated fruktosamine assay with improved accuracy used to quantify nonenzymatic glycation of serum proteins in diabetes mellitus and chronic renal failure. *Clin Chem* 1990; 36: 1825-1830
45. Lin, C Hoke, B Ettinger, and RV Coyne. Technical performance evaluation of BM/Hitachi 747-200 serum fruktosamine assay. *Clin Chem* 1996 42: 244-248.
46. Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, Byrd-Holt DD. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. Adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care* 1998;21(4):518-524.
47. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan DM, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 2003 Jan;26 Suppl 1:S106-8.
48. The American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for the Management of Diabetes Mellitus: the AACE system of intensive diabetes self-management--2000 update. *Endocr Pract*. 2000 Jan-Feb;6(1):43-84.
49. Emancipator K. Laboratory diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. *Am J Clin Pathol*. 1999 Nov;112(5):665-74.
50. Dolhofer R, Wieland OH. Increased glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus. *Diabetes* 1980;29:417-422
51. Baker JR, O'Connor JP, Metcalf PA, Lawson MR, Johnson RN. Clinical usefulness of estimatio of serum fruktosamine concentration as a screening test for diabetes mellitus. *Br Med J* 1983;287:863-867
52. Lim YS, Staley MJ. Measurement of plasma fruktosamine evaluated for monitoring diabetes. *Lin Chem* 1985;31:731-733
53. Austin GE, Wheaton R, Nanes MS, Rubin J, Mullins RE. Usefulness of fruktosamine for monitoring outpatients with diabetes. *Am J Med Sci* 1999; 318: 316-323
54. Leiper JM, Talwar D, Robb DA, Lunan CB, MacCuish AC. Glycosylated albumin and glycosylated proteins: rapidly changing indices of glycemia in diabetic pregnancy. *Q J Med* 1985;218:225-231
55. Contois R, Desjarlais F, Nguyen M, Beauregard H. Clinical usefulness of estimation of serum fruktosamine concentration as screening test for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 1989; 160: 651-656

56. Lim SY, Jhoo YM, Lee SS, Lee MH, Chung ES, Lee SJ. The clinical usefulness of serum fructosamine and HbA<sub>1c</sub> in patients with NIDDM. *Korean J Intern Med*, 1989; 4: 155-159
57. Kennedy AL, Merimee TJ. Glycosylated serum protein and hemoglobin A1 levels to measure control of glycemia. *Ann Intern Med*. 1981 Jul;95(1):56-8.
58. Cohen MP, Hud E. Production and characterization of monoclonal antibodies against human glycoalbumin. *J Immunol Methods*. 1989
59. Hud E, Cohen MP. Evaluation and performance characteristics of a novel ELISA using monoclonal antibody to glycated albumin. *Clin Chim Acta*. 1989 Nov;185(2):157-64.
60. Ikeda K, Sakamoto Y, Kawasaki Y, Miyake T, Tanaka K, Urata T, Katayama Y, Ueda S, Horiuchi S. Determination of glycated albumin by enzyme-linked boronate immunoassay (ELBIA). *Clin Chem*. 1998 Feb;44(2):256-63.
61. Frattali AL, Wolf BA. 1,5-Anhydroglucitol: a novel serum marker for screening and monitoring diabetes mellitus? *Clin Chem*. 1994 Nov;40(11 Pt 1):1991-3.
62. Yamanouchi T, Ogata N, Tagaya T, Kawasaki T, Sekino N, Funato H, Akaoka L, Miyashita H. Clinical usefulness of serum 1,5-anhydroglucitol in monitoring glycaemic control. *Lancet*. 1996 Jun 1;347(9014):1514-8.
63. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem*. 1991 Nov;37(11):1932-7.
64. Schleicher ED, Mayer R, Wagner EM, Gerbitz KD. Is serum fructosamine assay specific for determination of glycated serum protein? *Clin Chem*. 1988 Feb;34(2):320-3.
65. Krishnamurti U, Steffes WM. Glycohemoglobin: A primary Predictor of the Development or Reversal of Complications of Diabetes Mellitus. *Clin Chem*. 2001;47(7):1157-1165.
66. Woo J, Cockram C, Lau E, Chan A, Swaminathan R. Influence of obesity on plasma fructosamine concentration. *Clin Chem*. 1992 Nov;38(11):2190-2.
67. Rahman MA, Zafar G, Shera AS. Changes in glycosylated proteins in long-term complications of diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 1990;44(4):229-34

## EKLER

### EK 1: HASTA BİLGİ FORMU

#### KİMLİK BİLGİLERİ:

Adı ve Soyadı:	Tarih: ...../...../200	
Yaş:	Cinsiyeti: E K	Sıra No:.....
Doğum Yeri:	Eğitimi:	Dosya No:
Adres:		
Tel No:0.232.		

#### ÖZGEÇMİŞ:

##### Alişkanlık Öyküsü

	Ne kadar süredir içiyor/içmiş?	Ne miktarda?	Ne zaman bırakmış?
Sigara	.....yıldır	.....Adet/ gün	.....yıl önce
Alkol	.....yıldır	.....şişe-bardak /gün – hafta- ay	.....yıl önce

##### Fizik aktivite Öyküsü:

Mesleği
---------

Günlük aktivitesi	Ev Aktivitesi			İş Aktivitesi,		
	Hafif (yardımcılı)	Orta	Ağır (yardımcısız)	Hafif (masabaşı)	Orta	Ağır (bedensel)

Egzersiz/ Yürüyüş	Ne kadar süredir yapıyor/yapmış?	Ne miktarda?	Ne zaman bırakmış?
	.....yıldır	..... dk-sa/ gün-2 gün- haftada 1	.....yıl önce

##### Diabet Öyküsü:

Başlama yaşı	
Kontrol gelme aralığı	.....Haftada/ .....Ayda/ ..... yılda/
Kontrol gittiği sağlık kurumu	.....Diabet pol./.....Dahiliye pol./.....1.basamak/

	Duydu mu?	Ne sıklıkta baktırıyorsun?
KŞ		
HbA1c		

##### Tedavi:

Diyet	Ne tür diyet yapıyor?	Ne zamandır?	Uyuyor mu?
	.....kalorilik.....diyeti		

İlaçlar	Kullandığı ilaç	Ne zamandır?	Düzenli kullanıyor mu?
İnsülin			
Oral hipoglisemik (SU)			
Oral hipoglisemik (MF)			
Diğer hipoglisemikler			
Antihipertansif			
Lipid düşürücü			
Antiagregan (ASA)			
Diğer ilaçlar			
Diğer ilaçlar			
Diğer ilaçlar			
Diğer ilaçlar			
Diğer ilaçlar			

**EK 1 (devam):****Komplikasyon öyküsü:**

	Mevcut Patoloji	Ne kadar süredir?	Şiddeti nedir?
1. Nöropati	Sistopati İmpotans Gastroparezis Diare/konstipasyon Ayak problemleri	.....yıl .....yıl .....yıl .....yıl .....yıl	
2. Vasküler	Hipertansiyon Dislipemi Koroner Arter Hastalık Serebro Vasküler Hastalık Periferik Vasküler Hastalık	.....yıl .....yıl .....yıl .....yıl .....yıl	sKB:.....mmHg dKB:.....mmHg TG: .....mm/dL TK: .....mg/dL LDL:.....mg/dL Angina – MI GİA- Stroke Okluziv has- Amputasyon
3. Nefropati		.....yıl	MAİb .....mg/dL
4. Retinopati	Nonproliferatif retinopati Proliferatif retinopati	.....yıl	

Mevcut diğer hastalıklar	
--------------------------	--

**SOYGEÇMİŞ: Ailede diabeti ve obezitesi olan varmı?**

Büyükanneleer:	Büyükbabalar:
Anne:	Baba:
Kardeşler:	Çocuklar:

**FİZİKSEL BULGULAR:**

Boy (cm):	Vücut ağırlığı (kg):	Kan Basıncı (mmHg):
Kalça genişliği (cm):	Bel genişliği (cm):	Deri kalınlığı (mm):
Kompartmanlar (empedans ölçümü ile) % ..... kg		

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
OKULMANTASYON MERKEZİ